GASCHROMATOGRAPHISCHE RÜCKSTANDSUNTERSUCHUNGEN BEI SCHLACHTBAREN HAUSTIEREN AUF DAS PYRETHROID CYPERMETHRIN NACH ÄUSSERER ANWENDUNG

Susanne Grimm

Diss München
1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544313_0010

Aus dem Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt
in Frankfurt am Main
Direktor: Professor Dr. G. Wachendörfer
vorgelegt über das
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Infektions- u. Seuchenmedizin der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof.Dr.DDr.h.c. A. Mayr

GASCHROMATOGRAPHISCHE RÜCKSTANDSUNTERSUCHUNGEN BEI SCHLACHTBAREN HAUSTIEREN AUF DAS PYRETHROID CYPERMETHRIN NACH ÄUSSERER ANWENDUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Susanne Grimm
aus
Tettnang

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c.mult. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. Dr.h.c. L. Kotter

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS SEITE

1.	Einleitung	4
2.	Schrifttum	6
2.1	Physikalisch-chemische Eigenschaften des Cypermethrin	6
2.1.1	Allgemeine Chemie der Pyrethrine und Pyrethroide	6
2.1.2	Isomerie	8
2.1.3	Spezielle Eigenschaften des Cypermethrin	11
2.2	Handelsnamen und Art der Anwendung des Cypermethrin	13
2.2.1	Cymbush	13
2.2.2	Ripcord	13
2.2.3	Flectron	14
2.2.4	Barricade	15
2.2.5	Ardap	16
2.2.5.1	Eigenschaften und Anwendungsgebiete	17
2.2.5.2	Anwendung in Ställen und Wirtschaftsräumen	17
2.2.5.3	Anwendungsempfehlungen von Ardap an Tieren	17
2.2.5.4	Versuche zur Wirksamkeit bei Tieren	19
2.3	Toxizität von Cypermethrin	21
2.3.1	Phytotoxizität	21
2.3.2	Toxizität für Mikroorganismen im Boden	21
2.3.3	Toxizität für Arthropoden	21
2.3.3.1	Crustacea	21
2.3.3.2	Arachnida und Hexapoda	21
2.3.3.2.1	Wirkungsweise	21
2.3.3.2.2	Wirkungsdauer	22
2.3.3.2.3	Resistenz	22

2.3.3.2.4	Bienentoxizität	23
2.3.4	Toxizität u. Verträglichkeit für Vertebraten	23
2.3.4.1	Vögel	23
2.3.4.2	Fische	23
2.3.4.3	Säuger	24
2.3.4.3.1	Toxizität	24
2.3.4.3.2	Metabolismus und Eliminationsverhalten	27
2.4	Rückstandsuntersuchungen auf Cypermethrin bei Tieren und gesetzliche Bestimmungen	30
2.5	Gaschromatographische Trennung und quantitavive Bestimmung	37
3.	Eigene Untersuchungen	43
3.1	Material und Methodik	43
3.1.1	Tiermaterial	43
3.1.2	Art der Anwendung des Cypermethrin	44
3.1.3	Art der Probenentnahme	44
3.1.4	Verwendete Chemikalien	47
3.1.5	Schematische Darstellung des Analysenganges	50
3.1.6	Probenvorbehandlung	50
3.1.7	Fettgewinnung	51
3.1.7.1	Milch	51
3.1.7.2	Tierisches Gewebe	51
3.1.8	Verteilungschromatographie	52
3.1.9	Chromatographische Reinigung d.Rohextraktes	53
3.1.9.1	Vorbereitung der Florisilsäule	53
3.1.9.2	Probenaufgabe und Elution	53
3.1.10	Gaschromatographische Analyse des Reinextraktes	54

3.1.10.1	Säulenfüllung und Konditionierung	54
3.1.10.2	Arbeitsbedingungen des Gaschromatographen	54
3.1.10.3	Probeninjektion und Berechnungen	55
3.2	Ergebnisse	59
3.2.1	Wiederfindungsrate, Blindwert und Standardwerte	59
3.2.1.1	Milch	59
3.2.1.2	Schaf	60
3.2.1.3	Schwein	61
3.2.1.4	Huhn	62
3.2.2	Ergebnisse der aufbereiteten Proben	65
3.2.2.1	Milch	66
3.2.2.2	Schaf	67
3.2.2.3	Schwein	68
3.2.2.4	Huhn	74
3.2.3	Prozentualer Anteil der Cypermethrin-Rückstände an der aufgewendeten Gesamtmenge Cypermethrin	90
4.	Diskussion	92
5.	Zusammenfassung	101
6.	Summary	102
7.	Literaturverzeichnis	103

1. EINLEITUNG

Von bestimmten Tier- und Pflanzenarten wird eine Vielzahl insektizider Wirkstoffe erzeugt. So sind an die 2000 Pflanzenarten bekannt, die gegen Insekten wirksame Giftstoffe enthalten, von denen jedoch nur ein geringer Teil in der Praxis verwendet wird. Aus wirtschaftlichen und biologischen Gründen, z.B. wegen ihrer Herstellungskosten und geringen Haltbarkeit, können die tierischen und pflanzlichen Insektizide meist nicht mit den synthetischen Mitteln konkurrieren. Trotzdem sind sie für Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfung interessant, da die chemische Modifizierung der natürlichen Wirkstoffe einen Weg zu neuartigen, synthetischen Insektiziden eröffnet. Ein gutes Beispiel für die erfolgreiche Abwandlung von Naturprodukten bieten die Pyrethroide.
Natürlich vorkommende Pyrethrine sind die insektiziden Inhaltsstoffe einer Anzahl von Chrysanthemumarten, deren getrocknete und gemahlene Blüten seit Beginn des 19. Jahrhunderts zur Bekämpfung von Haushaltsungeziefer verwendet werden. Die ersten Präparate kamen vor mehr als 100 Jahren aus Dalmatien und dem Iran. Seit 1880 wird Chrysanthemum cinerariaefolium, die sich unter zahlreichen Chrysanthemumarten am besten zur Wirkstoffgewinnung eignet, in Japan und seit 1920 in Kenia, dem heutigen Hauptanbaugebiet, kultiviert.
Pyrethrum wird zum größten Teil auf dem Hygienesektor eingesetzt. Im Pflanzenschutz findet es nur begrenzte Anwendung, da der Wirkstoff rasch durch Luft und Sonnenlicht inaktiviert wird (BÜCHEL, 1977).
Pyrethroide sind synthetische Analoga der Pyrethrine. Ihrer Entwicklung lag das Bestreben zugrunde, die Wirkstoffe des teuren Naturproduktes Pyrethrum billig, d.h. mit einfachen Synthesen herzustellen. Abwandlungen des Molekülbaues der Pyrethrine führten besonders in den neueren Patenten zu Insektiziden mit außerordentlich hoher Insekten- und sehr niedriger Warmblütlertoxizität, guter Knock-down-Wirkung und langer Wirkungsdauer (HEIMBÜCHER, 1982).
Bereits 1950 erschien als erstes synthetisches Pyrethroid das Allethrin. In der Folgezeit wurde eine Vielzahl von

Pyrethrinanalogen synthetisiert, z.B. Bioallethrin, Bioresmethrin, Decamethrin, Fenvalerate,Permethrin, Tetramethrin und auch Cypermethrin, nur um einige wenige zu nennen.
Die Pyrethrine, eine der ältesten Insektizide, wurden durch die chlorierten Kohlenwasserstoffe, die Organophosphate und die Carbamate verdrängt. Die Entwicklung synthetischer Pyrethroide, die stabiler und billiger sind, und die außerdem eine hohe Wirksamkeit besitzen, haben das Interesse wieder erwachen lassen.
Cypermethrin wird zwar schon als Pflanzenbehandlungsmittel und Fliegenspray in der Bundesrepublik Deutschland vertrieben, doch die Zulassung als Tierarzneimittel steht noch aus. Die Behandlung von schlachtbaren Haustieren mit Ardap, einem Cypermethrin-haltigen Fliegenspray, zur RUckstandsanalyse auf Cypermethrin war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

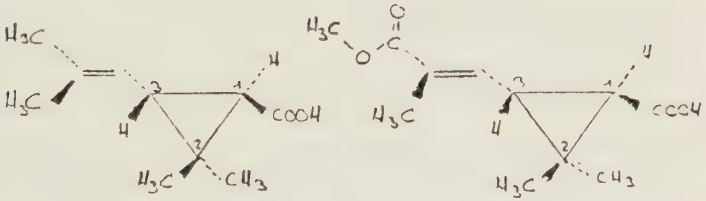
2. SCHRIFTTUM

2.1 PHYSIKALISCH-CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN DES CYPERMETHRIN

2.1.1 ALLGEMEINE CHEMIE DER PYRETHRINE UND PYRETHROIDE

Zur Gewinnung von Pyrethrum, dessen Gehalt je nach Anbaugebiet und Behandlung zwischen 0,3 % und 2 % schwankt, werden die Blüten kurz nach dem Aufblühen geerntet und dann entweder getrocknet und gemahlen, oder aber durch Kombination polarer und unpolarer organischer Lösungsmittel (z.B. Methanol/ Kerosin) extrahiert und auf 25 % Wirkstoffgehalt gebracht. Durch Zusatz von Antioxidantien, z.B. Hydrochinon oder Resorcin, kann die Stabilität und Lagerfähigkeit von Pyrethrum erhöht werden (BÜCHEL, 1977). Die insektiziden Bestandteile des Pyrethrums sind die optisch aktiven Ester aus der trans-Chrysanthemumsäure oder trans-Pyrethrinsäure und den drei Hydroxy-Ketonen Pyrethrolon, Cinerolon oder Jasmolon. Die Absolutkonfiguration ist in allen Estern 1R, 3R, 4S. Die Doppelbindung in der Seite des Alkoholteils ist cis-, die im Carbonsäureteil trans-konfiguriert (WEGLER, 1970).

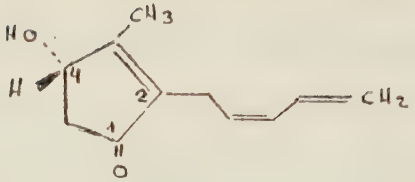
Abb. 1: Strukturformeln der chemischen Bestandteile des Pyrethrum



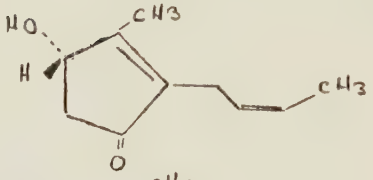
trans-
Chrysanthemumsäure

trans-
Pyrethrinsäure

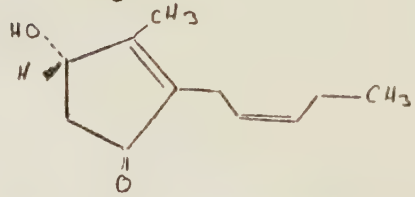
Pyrethrolon



Cinerolon



Jasmolon



Die insgesamt sechs Ester, die in den Pflanzen in wechselnden Mengenverhältnissen vorkommen, haben entsprechende Trivialnamen:

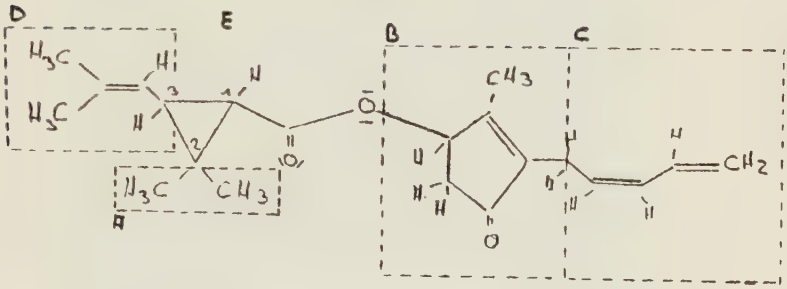
Pyrethrin I = Chrysanthemumsäure + Pyrethrolon
Pyrethrin II= Pyrethrinsäure + Pyrethrolon

Cinerin I = Chrysanthemumsäure + Cinerolon
Cinerin II = Pyrethrinsäure + Cinerolon

Jasmolin I = Chrysanthemumsäure + Jasmolon
Jasmolin II = Pyrethrinsäure + Jasmolon

Durch chemische Abwandlung entstanden die Pyrethroide. Die wegen ihrer komplizierten Stereochemie nur schwer herstellbaren natürlichen Alkoholkomponenten wurden durch eine Reihe weiterer synthetisch leichter zugänglicher Alkohole ersetzt. Auch der Säureteil ist inzwischen synthetisierbar (SHELL, 1983). Die so hergestellten Ester sind in ihrer Wirkung den Naturprodukten gleich oder sogar erheblich besser (BÜCHEL, 1977).

Abb. 2: Darstellung der wichtigen Strukturmerkmale von Pyrethroiden, die für die hohe Wirksamkeit verantwortlich sind (nach ELLIOT, 1977)



A Die geminalen Methyl-Gruppen am Cyclopropan-Ring sind für die Wirkung entscheidend. Verbindungen ohne diese Gruppe zeigen keine Aktivität.

B Der 5-Hydroxy-3-oxo-cyclopenten-Ring kann durch Strukturen ähnlicher Stereochemie ersetzt werden.

C Die Alkohol-Komponente soll eine Seitenkette tragen. Diese muß ungesättigt, kann jedoch 1-Alkenyl, 1-Cycloalkenyl oder ein Aromat sein.

D Der Substituent an C_3 muß nicht Isobut-1en-yl-, sondern kann z.B. 2,2-Dihalogen-vinyl sein.

E Die Konfiguration an C_1 und C_3 muß entweder 1R, 3S oder 1R, 3R sein.

2.1.2 ISOMERIE

Isomerie bedeutet soviel wie gleiche Summenformel, aber unterschiedliche Strukturformel, bzw. räumliche Anordnung (Konfiguration). Laut WACHTER-HAUSEN (1977) unterscheidet man zwischen Struktur- und Stereoisomerie. Beide lassen sich wiederum unterteilen:

1) Strukturisomerie

a) Kettenisomere, Gerüstisomere
In Kohlenwasserstoffen können die Kohlenstoffatome unterschiedliche Gerüste bilden, z.B. n-Butan und iso-Butan.

b) Stellungsisomere
Dieselbe funktionelle Gruppe substituiert verschiedene C-Atome, z.B. 1-Propanol, 2-Propanol.

c) Strukturisomere im engeren Sinne
Es sind verschiedene funktionelle Gruppen vorhanden, z.B. kann $C_3H_7NO_2$ 1-Nitropropan oder 2-Aminopropionsäure bedeuten.

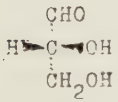
d) Tautomere
Es besteht ein Unterschied in der Anordnung eines Wasserstoffatoms und einer Doppelbindung. Im Gegensatz zu den anderen Strukturisomeren können tautomere Verbindungen leicht ineinander übergehen, z.B. Aceton in seiner Keto- und Enolform.

2) Stereoisomerie

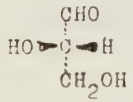
a) Geometrische, cis-trans Isomere
Sie findet man bei Molekülen mit Doppelbindungen und bei Ringverbindungen. Bei der cis-Form stehen die zwei betrachteten Atome oder Atomgruppen auf der gleichen Molekülseite in Bezug auf die Doppelbindung oder den Ring, bei der trans-Form auf verschiedenen Seiten, z.B. cis-1,2-Dichloräthan und trans- 1,2-Dichloräthan.

b) Spiegelbild-, optische Isomere
Sie unterscheiden sich nur durch ihre unterschiedliche Wirkung auf linear polarisiertes Lich' Zwei zueinander spiegelbildliche Substanzen drehen die Schwingungsebene linear polarisierten Lichtes um den gleichen Betrag, aber in entgegengesetzter Richtung..

Zwei spiegelbildisomere Moleküle bezeichnet man auch als optische Antipoden oder Enantiomere. Ein 1:1 - Gemisch zweier Antipoden nennt man Racemat; es dreht die Schwingungsebene linear polarisierten Lichtes nicht.
Nur dissymmetrische Moleküle, d.h. Moleküle, die weder eine Symmetrieebene noch ein Symmetriezentrum haben und dadurch mit ihrem Spiegelbild nicht zur Deckung gebracht werden können, sind optisch aktiv. Die Mehrzahl der dissymmetrischen Verbindungen enthält ein asymmetrisches C-Atom, das ist ein Kohlenstoffatom, das mit vier verschiedenen Substituenten verbunden ist, z.B. L-Amionsäure. Enthält ein Molekül n asymmetrische C-Atmone, so sind 2^n Stereoisomere möglich.
Nach der FISCHER´schen Schreibweise werden hinter der Ebene stehende Substituenten oberhalb und unterhalb und die vor der Ebene stehenden Substituenten rechts und links des asymmetrischen C-Atoms geschrieben. Das höchstoxidierte C-Atom steht immer oben.
Man kann hinter der Papierebene stehende Substanzen mit strichlierten Valenzstrichen und die vor der Papierebene stehenden mit stark ausgezeichneten Valenzstrichen kennzeichnen.
Glycerinaldehyd dient als Bezugssubstanz: sein rechtsdrehendes Isomeres bezeichnet man definitionsgemäß als D-Form, das linksdrehende als L-Form.



D-(+) Glycerinaldehyd



L-(-) Glycerinaldehyd

Die Zugehörigkeit zur D- bzw L-Reihe steht nicht im Zusammenhang mit dem Drehsinn, der experimentell zu finden ist, und den man mit (+/R) (rechtsdrehend) und mit (-/L) (linksdrehend) kennzeichnet.

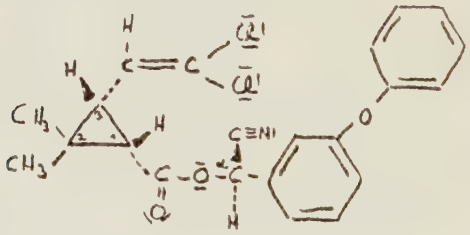
2.1.2 SPEZIELLE EIGENSCHAFTEN DES CYPERMETHRIN

Sämtliche Angaben stUtzen sich auf Informationen der Dt. Shell Chemie GmbH in Frankfurt/Main.

Chemische Bezeichnung: α-cyano-3-phenoxybenzyl 2,2-dimethyl-3-(2.2-dichlor-vinyl) cyclopropan-carboxylat

Summenformel: $C_{22}H_{19}NO_3CL_2$

Strukturformel:



Isomerie:
Cypermethrin hat drei optisch aktive C-Atome, das C_1, C_3 und das α-C-Atom, demnach gibt es 2^3 = 8 Enantiomere:

(1R cis) S	(1R trans) S
(1R cis) R	(1R trans) R
(1S cis) S	(1S trans) S
(1S cis) R	(1S trans) R

Die Angaben in Klammer beziehen sich auf den Säure-, die außerhalb der Klammer auf den Alkoholteil.
(1R cis) S bedeutet z.B., daß das H-Atom am C_1 vor der Bildebene und das H-Atom am α-C-Atom hinter der Bildebene steht. Dabei sind die Dichlorvinyl-Gruppe und die Carboxyl-Gruppe, auf den Cyclopropan-Ring bezogen, in cis-Stellung angeordnet.

Beschaffenheit:	visköse Flüssigkeit
Geruch:	mild chemisch
Farbe:	gelbbraun
Molekulargewicht:	416
Verflüssigung:	bei 60°
Dampfdruck:	1×10^{-8} mm Hg bei 20° C
Dichte:	1,12 g/cm^3 bei 20° C

Löslichkeit (g/l):

	0° C	20° C
Aceton	450	450
Methanol	62	450
Hexylen-Glykol	541	571
Hexan	65	145
o-Xylen	450	450
Isopropyl-Oxitol	477	600
Isobutanol	88	139
Wasser	-	0,001

Würmestabilität: bis zu 220° C stabil

Lichtstabilität: Eine gewisse Photosensibilisierung wurde bei simuliertem Sonnenlicht im Labor beobachtet, obwohl Feldversuche zeigten, daß die Anwendung dadurch nicht beeinflußt wird.

Hydrolytische Stabilität: Wiederfindung von Cypermethrin in einem Dioxan-Puffer bei 75° C nach 100 Stunden:

pH	%
2	78
4	94
6	67
8	5
10	0
12	0

2.2 HANDELSNAMEN UND ART DER ANWENDUNG DES CYPERMETHRIN

Die Synthese von Cypermethrin gelang als erstem ELLIOT (1975), der die Substanz über die englische Firma NRDC (National Research Development Corporation) als NRDC 149 patentieren ließ. Diese vergab ihrerseits Lizenzen an die Shell Chemie GmbH und die ICI (Imperial Chemical Industries) Ltd.
Laut Pesticide Manual (WORTHING, 1983) wurde Cypermethrin von der Shell Chemie GmbH unter dem Synonym WL 43467, von der ICI Ltd., Plant Protection Division unter dem Synonym PP 383 registriert. Diese Firmen vertreiben das Produkt kommerziell unter den Handelsnamen Ripcord^{R}, Flectron^{R}, Barricade^{R} und Ardap^{R} (Shell) bzw. Cymbush^{R} (ICI).

2.2.1 CYMBUSH

Cymbush ist ein Pflanzenbehandlungsmittel, das 100 g Cypermethrin/l Emulsionskonzentrat enthält
Eingesetzt wird es im Obstbau in einer Konzentration von 0,04 %, im Ackerbau gegen Rapsglanzkäfer und Kohlschrotenrüßler in einer Menge von 300 ml/ha, im Gemüsebau gegen beißende Insekten an Gemüsekohl im Freiland in einer Menge von 300 - 450 ml/ha und im Zierpflanzenbau gegen beißende Insekten im Freiland 0,05%ig, bzw. gegen die Weiße Fliege unter Glas 0,1%ig (ICI, 1983)

2.2.2 RIPCORD

Ripcord ist ebenfalls ein Pflanzenschutzmittel, das fast in der ganzen Welt (Asien, Amerika, Europa incl. Deutschland) vertrieben wird.
Es ist in zwei Konzentrationen erhältlich, nämlich als Ripcord 10 (100 g Cyp./l Emulsionskonzentrat) und als Ripcord 40 (400 g Cyp./l Emulsionskonzentrat).
In Deutschland sind sie unter der Zulassungs-Nr.der Biologischen Bundesanstalt 03186 bzw. 02977 registriert.

Tab.1: Anwendungsgebiete und Wartezeiten für Ripcord (SHELL, 1983)

	Ripcord 10	Ripcord 40
Anwendung	1) Ackerbau - Blattläuse (Virusvektoren) an Kartoffeln 0,9 l/ha - Kartoffelkäfer 0,3 l/ha - Rapsglanzkäfer 0,3 l/ha 2) Hopfenbau - Blattläuse 0,1 % 3) Gemüsebau - Beißende Insekten 0,6 l/ha - Kohleulen 0,6 l/ha	1) Ackerbau - Blattläuse (Virusvektoren) an Kartoffeln, 225 ml/ha - Kartoffelkäfer 75-150 ml/ha - Maiszünsler 2,0 l/ha 2) Forst - Rinden- u. holzbrütende Borkenkäfer proph. 0,5 % kurativ 0,75 % 3) Gemüsebau - Beißende Insekten und Kohleulen Pflanzen bis 50 cm 150 ml/ha Pflanzen 50 - 125 cm 250 ml/ha
Wartezeit	Kartoffeln 14 Tage Raps 56 Tage Hopfen 21 Tage Gemüse 14 Tage	Kartoffeln 14 Tage Mais 49 Tage Salat, Porree und Gemüsekohl 14 Tage

.2.3 FLECTRON

Flectron, ein siebeneckiges Weichplastikelement mit 3 cm Kantenlänge und 2 cm Dicke, das 8 % Cypermethrin enthält, wird in England, Frankreich, Holland und Belgien als Tierarzneimittel vertrieben, in Deutschland soll demnächst die Zulassung erfolgen.

Die Direktbehandlung von Rindern mit persistenten Insektiziden aus der Gruppe der Pyrethroide bietet die Möglichkeit, über einen längeren Zeitraum eine Schutzwirkung zu erreichen. Die Wirkung kann sowohl auf den "repellent-Effekt", wie auf die Aufnahme toxischer Insektiziddosen während des Aufenthalts der Dipteren auf den Rindern zurückgehen (ELLIOT et al., 1978).
An 2 Gruppen von je 5 Versuchsherden im süddeutschen Raum wurde der Einfluß der Behandlung von Milchkühen mit Flectron auf den Dipterenbefall untersucht. Musca autumnalis war die dominante Art, daneben traten stechende Zweiflügler auf. Nach der Behandlung der Kühe sank der Dipterenbefall um 82,5 % bzw. 77 % (KÜNAST et al., 1983).

2.2.4 BARRICADE

Barricade ist als Fliegenspray in England, Frankreich, Holland und Belgien zugelassen. Es existieren verschiedene Formulierungen, d.h. Emulsionskonzentrationen mit unterschiedlichen Mengen an Cypermethrin (SHELL, 1979).

Tab.2: Wirkungsspektrum und Dosierung von Barricade (SHELL, 1979)

Schädling	Dosierung (gCyp./100 ml Lsg.
1) Rind	
Zecken: einwirtig	0,015
Boophilus microplus	
mehrwirtig	0,015
Rhipicephalus	
Amblyomma	
Hyalomma	
Ixodes spp. etc.	
Läuse: Linognathus vituli	0,01 - 0,015
Räude: Sarcoptes bovis	0,01 - 0,015
Stallfliegen auf Mast- und Milchvieh: Haematobia irritans	0,05
Stomoxys calcitrans	
Musca spp.	

Schädling	Dosierung (gCyp./100 ml Lsg.)
2) Schaf	
Schaflausfliege:	0,0001 - 0,001
Melophagus ovinus	
Läuse:	0,0001 - 0,001
Damalinia ovis	
Räude:	
Psoroptes ovis	
- Starker Befall	
Einzeltauchbad	0,0075
Zweifachtauchbad (10 Tage)	0,005
- Schwacher Befall, Prophylaxe	
Einzeltauchbad	0,005
Zweifachtauchbad (10 Tage)	0,003
3) Schwein	
Räude:	
Sarcoptes suis	0,005 - 0,02
4) Geflügel	
Vogelmilbe:	
Dermanyssus gallinae	0,0125 - 0,05

2.2.5. ARDAP

Ardap, in Deutschland als Fliegenspray vertrieben, ist das Äquivalent zu Barricade. Ziel der Deutschen Shell Chemie GmbH ist es, dieses Präparat auch als Tierarzneimittel zuzulassen.
Ardap enthält 50 g Cypermethrin/l Emulsionskonzentrat. Das Emulsionskonzentrat enthält seinerseits außer Cypermethrin die Emulsogene EL und IT, Cyclohexanon und Isopropylglykol.
Über Ardap existiert kaum wissenschaftliche Literatur. Die meisten im Folgenden aufgeführten Angaben stützen sich auf Informationen der Shell Chemie und sollen als (SHELL, 1983) gekennzeichnet werden.

2.2.5.1 EIGENSCHAFTEN UND ANWENDUNGSGEBIETE

Ardap wirkt in gebrauchsfertiger Verdünnung sofort und lang anhaltend gegen alle Arten von Fliegen, Zweiflüglern, sämtliche Milbenarten (insb. Grabmilben, Sarcoptes spp. und Rote Vogelmilbe), Zecken, Läuse, Flöhe, Haar- und Federlinge sowie weitere Schädlinge oder Lästlinge, wie z.B. alle Käferarten, Schaben, Motten, Silberfischchen, Spinnen, Asseln und Ameisen. Es kann in Ställen jeder Art sowie Wirtschaftsräumen wie Melkanlagen, Milchkammern und Dielen angewendet werden. Die einmalige Anwendung genügt, um eine Dauerwirkung bis zu 6 Wochen zu erzielen. Ardap kann mit üblichen Spritzgeräten (z.B. Gartenspritze) auf jedes Material gesprüht werden (SHELL, 1983).

2.2.5.2 ANWENDUNG IN STÄLLEN UND WIRTSCHAFTSRÄUMEN

Kurativ (stärkerer Befall mit Ektoparasiten und Schädlingen): 2,0 %ig

Prophylaxe (geringer Befall mit Fliegen und Ungeziefer): 1 - 1,5 %ig

Während des Spritzens oder Sprühens können die Tiere im Stall verbleiben (SHELL, 1983).

2.2.5.3 ANWENDUNGSEMPFEHLUNGEN VON ARDAP AN TIEREN

Tab.3: Wirkungsspektrum und Dosierung von Ardap (SHELL, 1983)

Schädling	Spritz-, Waschkonzentration (%)
1) Rind	
Zecken	0,3
Läuse und Räude	0,2 - 0,3
Stallfliegen	1
2) Schweineräude	0,1 -0,4

Schädling	Spritz-, Waschkonz. (%)
3) Schafe	
Räude:	
- Schwerer Befall	
Einzeltauchbad	0,15
Zweifachtauchbad (10 Tage)	0,1
- Leichter Befall, Prophylaxe	
Einzeltauchbad	0,1
Zweifachtauchbad (10 Tage)	0,06
Läuse:	0,002 - 0,02

Die angegebenen Konzentrationen entsprechen den Dosierungen von Barricade aus Tab.2.
In der Regel reicht das Benetzen der Tiere bis zum Abtropfen, z.B. 0,5 l gebrauchsfertige Ardap-Lösung je Schwein oder etwa 1 l je Rind (SHELL, 1983).
DINGELDEIN (1980) berichtet von 2 Milchkuhbeständen, 3 Ferkelerzeugerbetrieben und 2 Koppelschafhaltungen, die mit 0,5 bzw. 1 %iger Ardaplösung behandelt wurden. Für eine Kuh wurden 2 l, für ein erwachsenes Schwein 1 l und für ein Schaf etwa 0,5 l der Lösung verbraucht. Für eine erfolgreiche Bekämpfung der Schweineräude empfiehlt DINGELDEIN (1980):

1) Genaue Feststellung der Parasitenart.

2) Mindestens 2-, häufiger 3- bis 4-malige Behandlung im Abstand von 1 Woche.

3) Vor Einleitung der Behandlung sollte die gesamte Einstreu der Stallabteilung entfernt werden. Auch Stalleinrichtungen, Boden und Wände sind in die Behandlung mit einzubeziehen.

4) Alle Tiere einer Abteilung sollten im Rein-Raus-Verfahren behandelt werden.

5) Aufweichung der Krusten.

6) Die Ohren sollten nicht vergessen werden.

2.2.5.4 VERSUCHE ZUR WIRKSAMKEIT BEI TIEREN

1) Umfangreiche Versuche haben gezeigt, daß Stalltiere nach der Behandlung mit Ardap bis zu 8 Wochen frei von Fliegenbefall blieben. Mit Ardap behandelte Rinder auf der Weide blieben trotz ungünstiger Witterungseinflüsse (Regen) bis zu 4 Wochen frei von Fliegen und Ektoparasiten (SHELL, 1983).
KÜNAST (1979) berichtet: Die Wirksamkeit des Präparates Ardap zur Fliegenabwehr wurde im Stall und bei Weidevieh untersucht. Im Stall war der Fliegenbefall bei 0,5 l einer 1 %igen Lösung (= 0,25 g Cyp./Rind) über zwei Wochen unter 5 Fliegen/Rind gesunken, zwei weitere Wochen war er signifikant reduziert (max. 10 Fliegen/Rind). 0,75 g Cypermethrin pro Rind auf der Weide erwies sich als optimal; über 30 Tage konnte damit eine sehr gute Kontrolle von Musca, Stomoxys und Haematobia erreicht werden (4 Fliegen/Rind).
In Österreich veröffentlichte Versuchsergebnisse sagen aus, daß sich der durchschnittliche Fliegenbefall pro Kuh nach Behandlung mit Ardap schon am gleichen Tag von 59,1 auf 0 und nach 8 Wochen von 59,1 auf nur 1,6 Fliegen verringerte (SHELL, 1983).
HEIMBUCHER (1976) berichtet über die Bekämpfung von Stomoxys calcitrans und Musca domestica in einem Milchviehbetrieb, und daß im Freiland mit Pyrethroiden ein guter Schutz über 8 Wochen erreicht werden konnte.

2) Weitere Versuche zeigten, daß bei Kühen nach der Behandlung mit Ardap deutlich weniger EuterentzÜndungen auftraten, und daß durch ruhiges Verhalten der Milchkühe - ohne Belästigung durch Fliegen - eine erhöhte Milchleistung bis zu 20 % zu verzeichnen war (SHELL, 1983).

3) Versuche in einem Bestand mit 34 Kälbern in einem bayrischen Staatsbetrieb haben gezeigt, daß eine 1 %ige Ardap-Lösung völlig ausreichend ist, um den Milbenbefall (keine genaueren Angaben) nach einmaliger Behandlung zu beseitigen und hierdurch vorhandene Hautschäden auszuheilen (SHELL, 1983).

4) Stark mit Sarcoptes-Räude befallene Schweinebestände wurden mit 0,1 %iger Ardap-Lösung besprüht. Die Konzentration war völlig ausreichend, um bei den befallenen Tieren eine eindeutige klinische Heilung zu erzielen. Nach 3 Wochen war die durch Milben verursachte Hautkrankheit abgeheilt (SHELL, 1983). DINGELDEIN (1980) berichtet allerdings über die Räudebehandlung in 3 Ferkelerzeugerbetrieben: Bei Zuchtsauen und Ebern sollte grundsätzlich die 1 %ige Lösung eingesetzt werden. Bei Läufern und Absatzferkeln zeigte bereits die 0,5 %ige Lösung in Form der Sprüh- oder Waschbehandlung gute Wirkung.

5) DINGELDEIN (1980) berichtet über zwei kleine Koppelschafhaltungen à 30 Tiere mit Psoroptesräude, die mit 1 %iger Ardaplösung behandelt wurden. Nach Abschluß der Behandlung konnte die Bestandssperre aufgehoben werden, nach Angaben zweier Amtstierärzte, die die Behandlung selbst durchgeführt hatten.

2.3 TOXIZITÄT VON CYPERMETHRIN

2.3.1 PHYTOTOXIZITÄT

Eine gewisse Empfindlichkeit von Blumenrabatten, insbesondere Rosen soll beim Besprühen mit Ripcord auftreten (SHELL, 1983). In Boden und Gewässern wird Cypermethrin jedoch rasch abgebaut (ICI, 1983).

2.3.2 TOXIZITÄT FÜR MIKROORGANISMEN IM BODEN

Mikroorganismen werden bei Konzentrationen von 2,5 mg Cyp./kg Boden nicht beeinflußt, soweit die CO_2-Produktion und der O_2-Verbrauch dies erkennen lassen. 250 mg/kg führen zu geringen Effekten nach langer Inkubation. Ein Einfluß auf die Stickstoff-Fixation wurde nicht beobachtet; desgleichen änderten sich weder die Ammonifizierung noch die Nitrifizierung (KAEMMERER, 1982).

2.3.3 TOXIZITÄT FÜR ARTHROPODEN

2.3.3.1 CRUSTACEA

Crustaceen werden bei der Anwendung von Ripcord in Freigewässern geschädigt.
Unter Laborbedingungen ist Cypermethrin hochtoxisch für Daphnia magna: 24h LC_{50} = 4,2µg Cyp./l (SHELL, 1979).

2.3.3.2 ARACHNIDA UND HEXAPODA

2.3.3.2.1 Wirkungsweise

Cypermethrin hat ausgeprägte Fraß- und Kontaktgifteigenschaften. Es weist zusätzlich eine abschreckende, d.h. repellente Wirkung auf (HEIMBUCHER, 1982). Die dezimierende Wirkung auf Insekten wird auch als Knock-down-Effekt bezeichnet.

2.3.3.2.2 Wirkungsdauer

Eine Residualwirkung ist vor allem gegen temporäre Parasiten erwünscht, die sich nur vorübergehend an ihrem Wirt aufhalten und an Rastplätzen und in Schlupfwinkeln erfaßt werden können (Fliegen, Rote Vogelmilbe etc.). Da viele Insektizide keine ausreichende ovizide Wirkung besitzen, ist in vielen Fällen eine Wiederholung der Behandlung notwendig, wobei das Intervall zwischen zwei Behandlungen von der Biologie des Parasiten, als auch von der Wirkungsdauer des Präparates abhängt (HEIMBUCHER, 1982).
Stalltiere sind nach der Behandlung mit Ardap bis zu 8 Wochen und weidende Rinder bis zu 4 Wochen frei von Fliegenbefall. Flectron gibt Cypermethrin bis zu 6 Wochen lang ab (SHELL, 1983).

2.3.3.2.3 Resistenz

Pyrethroid und Chlorkohlenwasserstoff-Resistenz werden durch dieselben Gene bewirkt. Es ist anzunehmen, daß in früheren Jahren verwendete Chlorkohlenwasserstoffe die Verbreitung solcher Gene gefördert haben. Unter dem starken Selektionsdruck langwirkender Pyrethroide, die zunächst noch erfolgreich eingesetzt werden konnten, weil die Frequenz Resistenz verursachender Gene niedrig war, kam es aber dann offenbar sehr rasch zur Zunahme resistenter Stallfliegenpopulationen (HEIMBUCHER, 1982).
In Süddeutschland nahm die Resistenz von Musca domestica gegenüber Permethrin, das gegen Stallfliegen breite Anwendung findet, innerhalb der letzten 4 Jahre beträchtlich zu. KÜNAST et al. (1979) berichten über die Empfindlichkeit von 15 Wildstämmen der Stubenfliege gegenüber Cypermethrin in Freising, Süddeutschland: 3 - 6 Tage alte Weibchen eines Stammes erhielten 0,5ul der in Aceton gelösten Testsubstanz auf den Thorax geträufelt. Die so behandelten Fliegen wurden in mit Gaze bespannten Plastikbechern im Brutschrank gehalten, nach 24h wurden die Überlebenden ausgezählt.

Mit einer Ausnahme (Stamm 6) lagen die LC_{50}-Werte im Bereich von $1,8 \times 10^{-5}$ bis $1,3 \times 10^{-4}$ ml Ardap/ml Aceton, d.h. Anzeichen von Resistenz gegenüber Cypermethrin lagen für die meisten der untersuchten Stämme nicht vor. Auffallend war, daß Stamm 6 sehr empfindlich war. Es läßt sich nicht ausschließen, daß bei diesem Stamm die Wirkung resistenzbedingter Gene zum Tragen kam. Aus Dänemark wird weit verbreitete Pyrethroid-Resistenz beschrieben (KEIDING, 1976, zit. nach KÜNAST, 1979).

2.3.3.2.4 Bienentoxizität

Bienen sind gegen Cypermethrin sehr empfindlich: LD_{50} 0,031µg Cyp. pro Biene (SHELL, 1979).

2.3.4 TOXIZITÄT UND VERTRÄGLICHKEIT FÜR VERTEBRATEN

2.3.4.1 VÖGEL

Die akute Toxizität beim Haushuhn und beim Rebhuhn wird mit 2000 bzw. 3000 mg Cyp./kg KGW (Cypermethrin in Dimethylsulfoxid gelöst) angegeben. Sie ist mithin als gering einzustufen, zumal keine klinischen Erscheinungen auftreten. Auch Wiederholungsgaben von 1 mg/kg bleiben ohne sichtbare Schadwirkung (KAEMMERER, 1982).

2.3.4.2 FISCHE

Fische erwiesen sich als empfindlich gegen Cypermethrin (Forelle, Karpfen, Orfe). Die LD_{50} liegt bei 0,5 - 2,8µg Cyp./l Wasser.
Es scheint eine negative Korrelation zur Temperatur zu bestehen (Karpfen), was aber offenbar nicht gesetzmäßig für alle Fische gilt. Auf die Abhängigkeit von Absorptionseffekten an feste Partikel im (Teich-)Wasser wird hingewiesen. Dieses Phänomen besitzt für die praktische Ausgangslage bei der Anwendung mehr Bedeutung als für die generelle toxikologische Beurteilung.
Labor- und Praxisversuche zeigen, daß eine sorgsame Anwendung in Freigewässern - insbesondere bei

freiem Abfluß - möglich ist (Fische), jedoch werden Insekten, Crustaceen und Milben mehr oder weniger stark geschädigt (KAEMMERER, 1982).

2.3.4.3 SÄUGER

2.3.4.3.1 Toxizität

Pyrethrine verursachen beim Menschen nur nach sehr großen Dosen Schwindel und Kopfschmerz (BRAUN, 1975). 1 - 2 g/kg KGW oral sind letal (WIRTH, 1971). Demgegenüber führen die intravenöse oder intraperitoneale Applikation zu erheblichen Vergiftungen (GARNER, 1968). Auch nach BENTZ (1969) besitzen die Pyrethrine keine praktisch-toxikologische Bedeutung, da die toxischen Grenzen sehr hoch liegen.

Ratte, Meerschweinchen	1500 mg/kg oral = letal
Maus	40 mg/kg i.P. = LD_{50}
Hund	6 -8 mg/kg i.v. = LD

Peroral aufgenommen wird Pyrethrum im Magen rasch hydrolysiert (LD_{50}: 570 - 1500 mg/kg Ratte oral, akut, PERKOW, 1971 - 1979). Die geringe orale Toxizität von Pyrethrinen beruht auf der Umsetzung der Wirkstoffe im Darminhalt zu ungiftigen Verbindungen (RÖMPP, 1962).
Eine akute dermale LD_{50} von Pyrethrinen ist nicht feststellbar, da die Wirkstoffe bei Warmblütlern im Gegensatz zu Insekten kaum durch die Haut aufgenommen werden. Bei Menschen wurde vereinzelt Dermatitis beobachtet. Einatmen von Staub oder Sprühnebel kann beim Menschen Kopfschmerz und Brechreiz verursachen. Für chronische Giftwirkungen von Pyrethrinen gibt es keine Anzeichen (HEIMBUCHER, 1982).
Die sehr gering warmblütlertoxischen Pyrethroide sind, ähnlich den Pyrethrinen, Nervengifte mit vorwiegend peripherem Angriffspunkt. Eine Ausnahme stellen Decamethrin und NRDC 156 (Pyrethroid) dar, deren Wirkung sich hauptsächlich auf das zentrale Nervensystem zu erstrecken scheint (HEIMBUCHER, 1982).
Folgende toxikologische Untersuchungen wurden mit

Ripcord von der DT. SHELL CHEMIE (1979) durchgeführt:

1) Akute Toxizität

Tab.4: Akute orale LD_{50} bei Ratten

Vehikel	LD_{50} mg Cyp./kg KGW
Öl	251
Dimethylsulfoxid	303
Glycerolformal	♂ 200 - 400 , ♀ 200
Wasser	♂ 400 - 800 , ♀ 400

Die Symptomatik umfaßte Sedation, Ataxie, gespreizten Gang, Umfallen mit gelegentlichem Tremor und Konvulsionen. Von entscheidender Bedeutung für die akute Toxizität ist das Lösungsmittel, so daß die Verträglichkeit in wässriger Suspension erwartungsgemäß wesentlich größer ist. Auffallend war die größere Empfindlichkeit weiblicher Tiere bei Ratte und Hamster, während die Relation bei Meerschweinchen sich umgekehrt verhält. Hunde erwiesen sich als relativ unempfindlich (bei 1000 mg Cypermethrin in Öl/kg KGW kein Todesfall), was nicht zuletzt auf Wirkstoffverluste durch Erbrechen zurückzuführen ist(KAEMMERER, 1982).
Die percutane Toxizität von Cypermethrin war äußerst gering. Selbst bei 1600 mg Cypermethrin in Xylol/kg KGW traten bei Ratten keine Todesfälle auf.
Die intraperitoneale LD_{50} für Ratten betrug mehr als 500 mg Cyp./kg KGW.
Ratten wurden 4h lang einem Sprühnebel ausgesetzt, wobei eine Konzentration von 0,7 mg Cyp./l Luft erreicht wurden. Die weiblichen Ratten zeigten Intoxikationserscheinungen, von denen sie sich jedoch in drei Tagen wieder erholten. Todesfälle traten keine auf. Auch Veränderungen an peripheren Nerven konnten nicht festgestellt werden.

2) 3-monatige Toxizitätsversuche (oral)

a) Ratten erhielten 0 - 25 - 100 - 400 und 1600 mg Cyp./kg KGW 3 Monate lang oral.
Der 'no-effect-level'lag bei 100 mg/kg. Bei 400 mg/kg wurde ausschließlich eine Vergrößerung der Nieren festgestellt. Bei 1600 mg/kg kam es zu Todesfällen. Die Überlebenden erholten sich in der 6. Woche, jedoch war eine Reduzierung des Körpergewichts zu verzeichnen. Die Tiere aus dieser Gruppe zeigten ein erhöhtes Gewicht von Leber und Niere, die Hämoglobin-Konzentration im Blut war erniedrigt und die peripheren Nerven zeigten Axondegeneration und Vakuolisierung.

b) Beagles wurden 13 Wochen lang mit 0 - 5 - 50 - 500 und 1500 mg/Cyp./kg KGW gefüttert.
Der 'no-effect-level' lag bei 500 mg/kg. Die Gruppe mit 1500 mg/kg zeigte ausschließlich klinische Erscheinungen: Diarrhoe, Anorexie, Tremor, steifen Gang, Ataxie, Inkoordination und Hyperästhesie. Veränderungen an Organen, Nerven oder im Blut konnten nicht nachgewiesen werden.

3) 2 jährige Toxizitätsversuche (oral)

Ratten wurden mit 0 -1 - 10 - 100 und 1000 mg Cyp./kg KGW gefüttert.
Der 'no-effect-level'lag bei 100 mg/kg. Die Gruppe mit 1000 mg/kg zeigte reduziertes Körpergewicht, die männlichen Tiere außerdem eine Reduzierung der Alkalischen Phosphatase, die jedoch nicht in Korrelation zur aufgewendeten Gesamtmenge an Cypermethrin stand und als unwesentlich anzusehen ist. Weitere Veränderungen in Organen, Nerven oder im Blut konnten nicht festgestellt werden.

4) Reizerscheinungen

Lokal übt die unverdünnte technische Substanz eine geringe reversible Reizwirkung an Kaninchen-Auge und -Haut aus.

5) Sensibilisierung

Die Sensibilisierungsneigung der Meerschweinchen-Haut wird als sehr gering bezeichnet.

6) Mutagene - Carcinogene - Embryotoxische - oder Teratogene Wirkung

Alle Versuche in dieser Richtung verliefen negativ.

7) Erscheinungen beim Menschen

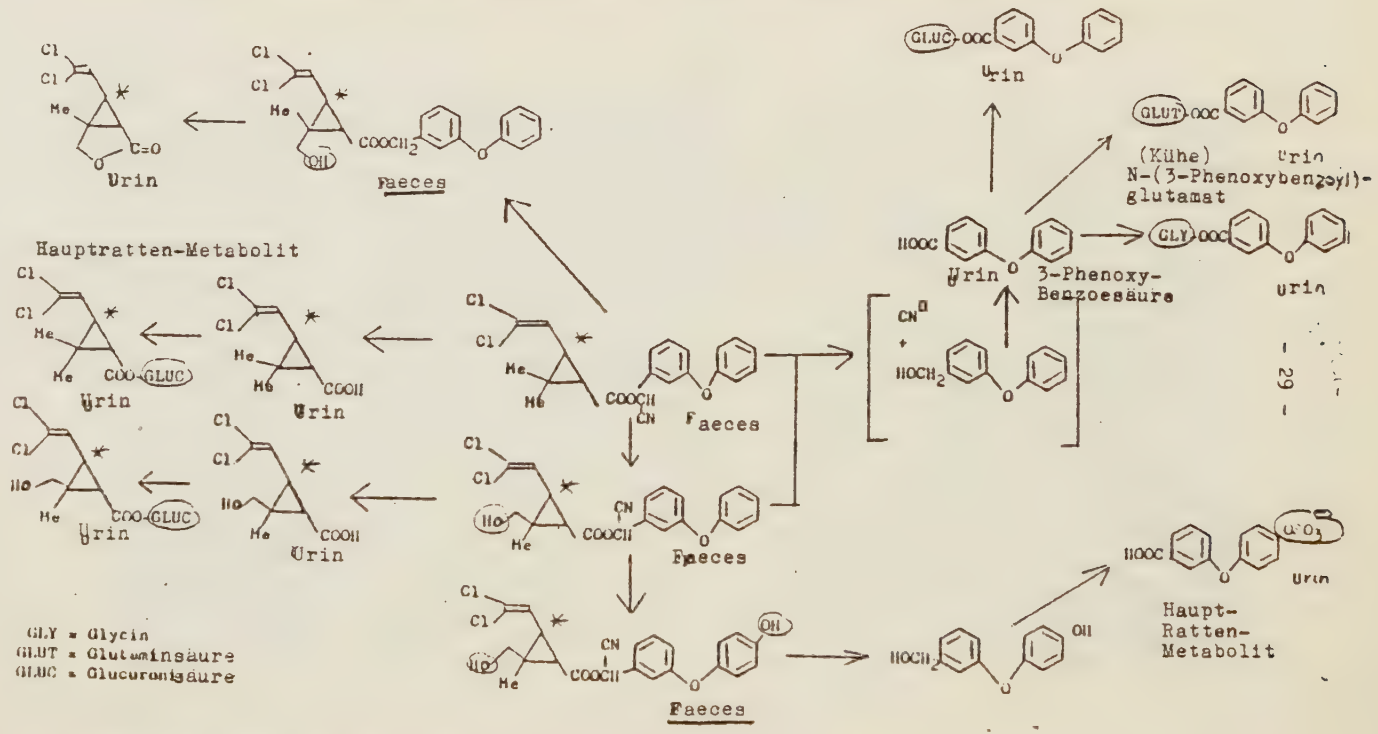
Einige Arbeiter berichteten über periorbitale Empfindungen, vergleichbar mit dem Gefühl nach einer Zahnanästhesie oder nach einem Brennnesselstich (aber ohne Blasen oder Rötung). Das Gefühl blieb maximal 1 Tag. Andere Veränderungen klinischer oder neurologischer Natur konnten nicht festgestellt werden.

2.3.4.3.2 Metabolismus und Eliminationsverhalten

Cypermethrin ist aufgrund des Dichlorvinylrestes im Säureteil und der beiden Benzolringe im Alkoholteil eine ausgesprochen lipophile Substanz. Oral aufgenommen wird es zum großen Teil über den Kot in hydroxylierter Form wieder ausgeschieden. Ein Teil wird resorbiert und wie auch nicht peroral aufgenommenes Cypermethrin in der Leber metabolisiert. Dort erfolgt die Aufspaltung in den Säure- und Alkoholteil und die Konjugation mit Glycin, Glutaminsäure, Glucuronsäure oder Schwefelsäure. Die entsprechenden Konjugate oder auch der Säureteil allein werden dann über den Urin eliminiert (SHELL, 1979).
In Studien zum Metabolismus wurde bei Mäusen, Ratten und Hunden ermittelt, daß die Metabolisierungsschritte ähnlich sind. Lediglich die Relationen differieren und zwar vor allem bezüglich unterschiedlicher Konjugationsreaktionen (SHELL, 1979).
In Vergleichsstudien mit dem hauptsächlichen Pflanzenmetaboliten von Cypermethrin konnte bei Ratten gezeigt werden, daß diese zunächst das Glykosid hydrolisieren. Danach wird 3-Phenoxybenzoesäure metabolisiert (Abb.3).

Die Kopplung der phenolischen Bestandteile erfolgt an Glutaminsäure, Glykokoll oder Glukuronsäure resp. Schwefelsäure. Der Dichlorvinylrest wird offenbar nicht von dem Cyclopropananteil gelöst. Insgesamt wird dieser Molekülteil als Dimethyverbindung glukuronidiert oder als Monomethyglukuronid im Urin eliminiert. Der Hauptmetabolit im Urin von Kühen ist N - (3-phenoxybenzoyl) - glutamat. In den Faeces erscheint das einfach demethylierte Gesamtmolekül (-OH) bzw. das Analogon nach Verlust des Cyanrestes und einfacher Demethylierung (KAEMMERER, 1982).

Abb.3: Metabolismus von Cypermethrin in Säugern (Ratte, falls nicht anders bezeichnet)



Anmerkung: * Soll der Einfachheit halber cis- und trans-Cypermethrin bedeuten

2.4 RÜCKSTANDSUNTERSUCHUNGEN AUF CYPERMETHRIN BEI TIEREN UND GESETZLICHE BESTIMMUNGEN

Rückstandsuntersuchungen von mit Ardap behandelten Tieren wie Rindern und Schafen haben gezeigt, daß bei direkter Behandlung mit Ardap in der empfohlenen Dosierung keine Rückstände in Fett, Muskeln, Leber und auch der Milch vorhanden waren. So waren z.B. bei Milchkühen 1 Tag nach dem Besprühen mit 1 %iger Ardap-Lösung nur Werte von 0,007 bis 0,006 µg/g und 14 Tage danach nur noch Werte von 0,002 µg/g vorhanden (SHELL, 1983).
Folgende Rückstandsuntersuchungen wurden mit Barricade von der SHELL CHEMIE (1979) durchgeführt:

Tab.5: Rückstandsergebnisse eines Schafes, das in eine Cypermethrin-Lösung getaucht worden war (SHELL, 1979)

gCyp./100 ml Lsg.	Tage nach d. Behandlung	Fett µg/g	Muskel µg/g	Leber µg/g	Niere µg/g
0,005	1	<0,1-0,02	<0,01	<0,01	<0,01
	3	<0,01-0,03	"	"	"
	4	<0,02	"	"	"
	14	<0,01-0,07	"	"	"
0,05	7	0,01-0,04	"	"	"

Tab.6: Rückstandsergebnisse eines Mastrindes, das in eine Cypermethrin-Lösung getaucht worden war (SHELL, 1979)

gCyp./100 ml Lsg.	Tage nach d. Behandlung	Fett µg/g	Muskel µg/g	Leber µg/g	Niere µg/g
0,017	4	0,03-0,06	<0,01	<0,01	<0,01
	14	0,03-0,13	"	"	<0,01-0,03

Tab.7: RÜckstandsergebnisse einer Milchkuh, die mit einer Cypermethrin-Lösung besprÜht worden war (SHELL, 1979)

gCyp./100 ml Lsg.	Tage nach d. Behandlung	Gesamtmilch in µg/g Doppelproben
0,075	1. Behandlung	
	1	0,006; 0,007
	3	0,005; 0,008
	7	0,006; 0,009
	15	<0,002; 0,002
	2. Behandlung n.14 Tagen	
	1	0,005; 0,007
	3	0,006; 0,006
	7	0,004; 0,006
	14	0,002; 0,003
	3. Behandlung n.14 Tagen	
	1	0,006; 0,007
	3	0,006; 0,009
	7	0,005; 0,006
	21	<0,001; 0,001

	Fett	Muskel	Leber	Niere
24	<0,01-0,03 µg/g	<0,01 µg/g	-0,01 µg/g	<0,01 µg/g

KAEMMERER (1982) nimmt Stellung zur pharmakologisch-toxikologischen PrÜfung von Flectron:

1) Ratte

Eine männliche und eine weibliche Ratte wurden mit 0,5 mg 14C-markiertem Cypermethrin/kg KGW gefÜttert. Nach 2 Tagen erschienen im Urin 53 % (♂) bzw. 67 % (♀) und nach 3 Tagen im Kot 29 % (♂) bzw. 27 % (♀) der verabreichten Substanz. Nach ebenfalls drei Tagen wurden die in Tab.8 aufgefÜhrten RÜckstandsuntersuchungen vorgenommen.

Tab.8: Rückstandsergebnisse nach 3 Tagen von mit 0,5 mg Cypermethrin/kg Körpergewicht gefütterten Ratten (in µg Cyp./g Probe) (SHELL, 1982)

Proben	♂	♀
Leber	0,37	0,12
Niere	0,1	0,06
Fett	0,31	0,72
Muskel	0,01	0,009
Hirn	0,009	0,008
Blut	0,05	0,04

Die Hauptverweildauer lag im Fett. Am 15. Tag p. appl. wurden bei je 1 männlichen bzw. 1 weiblichen Tier 0,09 bzw. 0,16 µg Cyp./g Fett nachgewiesen. Nach drei Tagen befanden sich nur noch 5 % der Dosis im Körper (ohne Haut und Darm). Offensichtlich stellt somit das Fett neben der männlichen Leber das Hauptdepot dar. Das Cis-Isomere wird aus dem Fett nur langsam eliminiert. Die Eliminations-Halbwertszeit der Radioaktivität betrug zwischen dem 14. und 42. Tag 20 - 25 Tage. Am 25. Tag bestand die Aktivität zu 90 - 100 % noch aus unverändertem Cypermethrin.

2) Kuh

Laktierende Kühe wurden über 20 Tage mit 14C-markiertem Cypermethrin gefüttert. Die Menge entsprach 0,2 mg/kg des Gesamtfutters (10 kg/Tag), bzw. 5 mg/kg des Gesamtfutters (15 kg/Tag) bei einem entsprechenden 7-tägigen Fütterungsversuch. Nach 2 Tagen erschienen im Urin 53,6 % (0,2 mg/kg) bzw. 50 % (5 mg/kg), nach 3 Tagen im Kot 42 % (0,2 mg/kg) bzw. 40 % (5 mg/kg) der verabreichten Substanz.

Für die 20 bzw. 7 Tage dauernde Versuchsdauer wurden Rückstandsuntersuchungen durchgeführt, die in Tab.9 und 10 veranschaulicht werden.

Tab.9: Relative Ausscheidung des Cypermethrin in der Milch (SHELL, 1982)

Futterkonz. (mg/kg)	Dauergabe (Tage)	Konz.i.d.Milch (%)	davon im Fett (%)
0,2	20	0,5	60 - 70
5	7	0,003 - 0,013	83 - 89

Die Ausscheidungsrate in der Milch ist bei der höheren Dosis um ein Vielfaches geringer als bei der niedrigeren Dosis. Hierfür ist möglicherweise das Laktationsstadium verantwortlich zu machen (KAEMMERER, 1982).

Tab.10: Rückstandsergebnisse nach 20 bzw. 7 Tagen von mit 0,2 bzw. 5 mg Cypermethrin/kg Futter gefütterten Rindern (in µgCyp./g Probe) (SHELL, 1982)

Proben	0,2 mg Cyp./kg Futter nach 20 Tagen	5 mg Cyp./kg Futter nach 7 Tagen
Leber	0,006	0,13
Niere	0,004	0,13
Fett	0,11	0,1
Muskel	0,005	0,07
Hirn	0,005	0,07
Blut	0,005	0,07

Eine Angabe zum Isomeren fehlt.
Bei Rindern, deren Gewebe im Zeitraum von 1- 15 Tagen nach der Einziehung des Flectron-Ohrclips auf Rückstände untersucht wurden, ergaben sich folgende Werte (n = 3):

Leber, Niere, Muskel	$<0{,}005$ µg/g
Nieren-, Omentalfett	$<0{,}001$ µg/g

3) Schaf
Schafe wurden mit 21,9 mg/kg eines Gemisches von markiertem und nicht markiertem Wirkstoff dermal, bzw. 3,9 mg/kg oral behandelt.

Tab.11: RUckstandsergebnisse von dermal und oral behandelten Schafen (SHELL, 1982)

	dermal		oral	
Dosis mg/kg	21,9		3,9	
Urin	6 Tg.	2 %	2 Tg.	41 %
Kot	6 Tg.	0,5 %	2 Tg.	20,5 %
Appl. Ort		30 %		
Leber/Niere	6 Tg.	0,12 µg/g	2 Tg.	0,38 µg/g
Nierenfett		0,3 µg/g		0,41 µg/g
Muskel		0,04 µg/g		0,04 µg/g

Die dermale Resorption erfolgt langsam. Nur 2 % werden in 6 Tagen im Urin und nur 0,5 % der Dosis im Kot ausgeschieden. An der Applikationsstelle bleiben 30 % liegen. Dennoch kommt es zu bemerkenswerten GeweberUckständen.

4) Fische
Die Akkumulation in Fischen als Sonderfall läßt eine zunehmende Einspeicherung aus dem Behandlungsareal erkennen. Nach 100 g Cyp./ha stellen sich erhebliche RUckstände von 50 - 5 µg/g Fisch nach 1 Tag bzw. 16 Wochen ein Das Gleichgewicht ist nach 11 Tagen erreicht.

Neueste RUckstandsuntersuchungen von mit Flectron behandelten MilchkUhen ergaben folgendes (SHELL, 1982):

1) Keine RUckstände wurden in Gewebe gefunden, das subcutanes Fett enthielt.

2) In Milch wurden Spuren von 0,002 mg/l in fUnf von zwölf Proben innerhalb der ersten zwei Wochen gefunden.

3) In allen Haarproben wurden RUckstände in Höhe von 0,05 - 160 mg/kg gefunden. Im Nackenhaar steigen die RUckstände im Laufe der Zeit stark

an und fallen dann langsam wieder ab. Die Rückstände auf den Haaren des Rückens dagegen nehmen anfangs nicht so stark zu, steigen dafür aber im Laufe der Zeit langsam an.

Spezielle gesetzliche Bestimmungen liegen für Cypermethrin nicht vor.
Ripcord und Cymbush sind als Pflanzenbehandlungsmittel bereits zugelassen. Demnach gilt § 14 des Lebensmittel- und Bedarfs=gegenständegesetzes (BGBL, 1974), bzw. die Pflanzenschutz=mittel-Höchstmengenverordnung (BGBL, 1982), wo festgelegt ist, daß Pflanzenschutzmittel, die nicht zugelassen sind, bzw. die bei Lebensmitteln nicht angewendet werden dürfen, trotzdem in oder auf Lebensmitteln tierischer Herkunft in den Verkehr gebracht werden dürfen, falls sie 0,01 mg/kg nicht überschreiten. Das bedeutet, wenn Ripcord oder Cymbush zufällig auf tierische Lebensmittel gelangen würden, so wäre das Inverkehrbringen des betreffenden Lebensmittels erlaubt, falls maximal 0,01 mg Cypermethrin/kg Lebensmittel enthalten wären. Für Ripcord wurden für die neue Höchstmengen-VO beim Bundesgesundheitsamt (BGA) in Berlin, der Zulassungsstelle für Tierarzneimittel und bei der Biologischen Bundesanstalt (BBA) in Braunschweig, der Zulassungsstelle für Pflanzenbehandlungsmittel, von der Dt.SHELL CHEMIE GmbH in Frankfurt in Tab 12 aufgelistete Werte vorgeschlagen. Werden diese gesetzlich festgelegt, so darf ein Lebensmittel nur in den Verkehr gebracht werden, falls Cypermethrin in ihm Höchstmengen nicht überschreitet.

Tab.12: Vorgeschlagene Höchstwerte für Cypermethrin (Ripcord) in mg/kg

	BGA	BBA
Hopfen	2	2
Kernobst	-	2
Pfirsich und Aprikosen	-	2
Johannisbeeren	-	2
Kirschen	-	1
Weintrauben	-	1
Übriges Beerenobst	-	1

	BGA	BBA
Zwetschgen,Pflaumen	-	0,5
Salat	-	1,0
Gemüse,außer Salat	-	0,5
andere pflanzl.Lebensm.	-	0,05
Kohl	1,0	-
Blattgemüse,außer Kohl	0,5	-
Kartoffeln	0,005	-
Maiskorn	0,005	-

Ardap ist ein Hygieneprodukt, das keinerlei Registrierung oder Zulassung bedarf. Es unterliegt lediglich den Anforderungen der Gift-Verordnung (LANDESVERORDNUNG ÜBER GIFTE UND HOCHGIFTIGE STOFFE, 1980) .
Im Falle der Zulassung von Ardap oder Flectron als Tierarzneimittel tritt § 15 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetzes (BGBL, 1974) in Kraft. In ihm wird verfügt, daß Lebensmittel von Tieren, die mit zugelassenen oder registrierten Arzneimitteln behandelt worden sind, nur dann in den Verkehr gebracht werden dürfen, falls die für Stoffe mit pharmakologischer Wirkung oder deren Umwandlungsprodukte festgelegten Höchstmengen (BGBL, 1981) nicht überschritten werden. Sind keine Höchstmengen festgelegt, so muß eine Wartezeit von fünf Tagen (falls nicht anders festgelegt) eingehalten werden.
Von der FAO/WHO wurde im Jahre 1981 für Cypermethrin ein ADI-Wert (Acceptable Daily Intake) von 0 - 0,05 mg/kg KGW/Tag auf internationaler Ebene vorgeschlagen. Ebenso wurden Höchstmengen für Cypermethrin in tierischen Lebensmitteln empfohlen: für Milch 0,01mg/kg, bzw. für Milchprodukte auf Fettbasis 0,2 mg/kg und für Fleisch, bzw. deren Produkte 0,2 mg/kg.

2.5 GASCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG UND QUANTITATIVE BESTIMMUNG

Nach SCHOMBURG (1977) ist die Gaschromatographie eine Methode zur Analyse flüchtiger und ohne Zersetzung oder Umwandlung verdampfbarer Verbindungen. Sie ist eine Trennmethode zur Gewinnung reiner Stoffe, die aber auch qualitative und quantitative Analysen von Mischungen liefert. Dabei kommt es darauf an, wann und wieviel von einem Detektor aufgezeichnet wird. Die Gaschromatographie zeichnet sich durch hohe Präzision (Wiederholbarkeit, Vergleichbarkeit), hohe Richtigkeit und Schnelligkeit aus. Die Gaschromatographie stellt neben der Dünnschicht- und Papierchromatographie ein spezielles Verfahren dar, das auf dem Prinzip der Säulenchromatographie beruht und von dem russischen Botaniker TSWETT (1906) seinen Namen erhielt, der mit Hilfe dieses Verfahrens Pflanzenfarbstoffe in einer Zuckersäule trennen konnte. Im Jahre 1952 entwickelten JAMES und MARTIN die Gaschromatographie, die anstelle eines Lösungsmittels ein inertes Trägergas verwendet, das die zu untersuchenden leichtflüchtigen Stoffgemische durch die Säule führt. Durch eine unterschiedlich starke Aufteilung der verschiedenen Substanzen zwischen einer stationären und einer mobilen Phase durch Adsorptions-, Verteilungs- oder Austauschkräfte kommt es schließlich zu einer mehr oder weniger guten Trennung der Stoffe, die schließlich durch physikalische Methoden nachgewiesen werden (N.N., 1962).
SCHOMBURG (1977) teilt den Aufbau gaschromatographischer Apparaturen in die Trennsäule und einen Detektor ein. Es gibt Gaschromatographen, deren Trägergasversorgung mit Druck und/oder Strömungsregelung erfolgt, deren Probenaufgabeteil mit oder ohne Stromleitung ausgerüstet ist, deren Säulenofen konstante Temperaturen oder ein Temperaturprogramm fahren kann. Die gaschromatographische Trennsäule und der Detektor sind einem Registriersystem, bestehend aus einem Schreiber, Integrator oder einem EDV-Teil vorgeschaltet.

Die Probe wird über die Einspritzstelle oder ein by-pass-Einlaßventil in das unter Druck stehende inerte Trägergas eingebracht und verdampft. Die Säulen unterscheiden sich durch ihre Trennkraft und Belastbarkeit(Substanzmengen), die Länge, den Durchmesser und die Art und Menge an stationärer Phase. Das kontinuierlich gemessene Detektorsignal ergibt im Registriersystem ein Analog- oder Digitalchromatogramm. Die mobile Phase in der Gaschromatographie wird von dem Trägergas gebildet; je nach Art der stationären Phase unterscheidet man eine gas-liquid-chromatography (flüssige stationäre Phase) und eine gas-solid-chromatography (feste stationäre Phase), wobei diese als Löse- oder Adsorptionsmittel dient. Verbindungen mit hohem Dampfdruck und/oder niedriger Löslichkeit in der stationären Phase werden früh eluiert und haben eine kurze Retentionszeit; dabei besteht auch eine Abhängigkeit zur Molekülstruktur, der Art der funktionellen Gruppen und deren Geometrie. An die Trennsäule werden folgende Anforderungen gestellt:

1. guter Stoffaustausch zwischen mobiler und stationärer Phase,

2. hohe Permeabilität (geringer Druckabfall),

3. hohe Belastbarkeit und

4. großer Temperaturbereich der Anwendung (SCHOMBURG, 1977).

Nach der Aufgabe solcher Trennsäulen unterscheiden JOHNSON und STEVENSON (1978) analytische und präparative Säulen. SCHOMBURG (1977) unterscheidet die Säulen nach ihrem Aufbau:

1. gepackte Säulen; es handelt sich dabei um Glassäulen von 1-5 mm Durchmesser und 0,5-10 m Länge.

2. Dünnfilm-Trennkapillare; hierfür finden Glas- oder Stahlsäulen von 0,1-0,5 mm Durchmesser und 10-200 m Länge Verwendung.

3. Dünnschicht- bzw. SCOT- (support-coated open tubular column) Trennkapillaren.

Der Optimierung der Säulenparameter dienen:

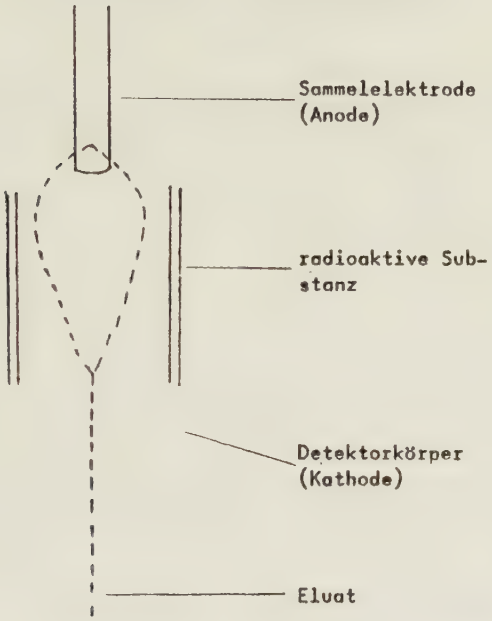
1. Temperatur (abhängig von den Komponenten und der Länge der Säule),

2. Trägergasströmung und

3. Säulenbelastung.

Die in der Säule getrennten Stoffe werden im Detektor quantitativ erfaßt, indem es zum Aufbau elektrischer Signale kommt. Die Ansprechzeit, d.h. die Zeit bis zum Aufbau des elektrischen Signals, liegt beim Wärmeleitfähigkeits-Detektor (WLD) bei 0,1 sec. und beim Flammeninduktions-Detektor (FID) bei 0,001 sec. Während der FID nur bei kohlenstoffhaltigen Substanzen angewendet werden kann, wird bei der Cypermethrin-Analyse ein anderer Detektor, der ECD (electron-capture-detector) eingesetzt. Die Empfindlichkeit eines Detektors wird gekennzeichnet von Umsetzungsverhältnissen (responsivity) und der kleinsten noch nachweisbaren Substanzmenge (detektivity). SCHOMBURG (1977) bezeichnet den ECD als spezifischen Detektor für stark elektronenaffine Stoffe.

Abb.4: Aufbau eines ECD (Bauart Perkin Elmer) nach SCHOMBURG (1977)



Die von den Detektoren aufgebauten elektrischen Signale werden an das Registriersystem weitergegeben. Das dabei entstehende Gaschromatogramm stellt das Protokoll der gaschromatographischen Trennung dar. Ein Peak entspricht einer Komponente und bildet die Registrierung einer elektrischen Größe, die zu jedem Zeitpunkt der Korrelation der Komponente im Trägergas proportional ist Peaks sind also zeitabhängige Konzentrationsprofile.Weiter führt SCHOMBURG (1977) aus, daß als optimale Peakform bei der isothermen Gaschromatographie die Gauß´sche Glockenkurve angesehen werden muß. Die Symmetrie zum Lot im

Peakmaximum ergibt sich bei linearem Zusammenhang zwischen dem Partialdruck in der Gasphase und der Konzentration in der stationären Phase. Im Gaschromatogramm spielen unter anderem der Einspritzpunkt und die Retentionszeit eine Rolle. Die Retentionszeit ist abhängig vom Verteilungskoeffizienten K.

$$K = \frac{\text{Konzentration in der festen Phase}}{\text{Konzentration in der Gasphase}}$$

Ist der Verteilungskoeffizient gleich 0, so ist das Retentionsvolumen dennoch ungleich 0, da das Totvolumen berücksichtigt werden muß. Erfaßt der Detektor nur das Trägergas, so wird nur eine Basis- oder Nullinie registriert. Die Retentionszeit dient der qualitativen Analyse. Die quantitative Analyse erfolgt über die Auswertung der Peakfläche, selten der Peakhöhe. Die Höhe von Peaks in einem Chromatogramm ist im Unterschied zur Peakfläche von der Retentionszeit abhängig, weswegen keine starken Schwankungen der Retentionszeit auftreten dürfen. Bei Verwendung der Peakhöhe zur Auswertung ist daher für jede Komponente eine Eichung erforderlich, auch wenn für alle anwesenden Komponenten keine großen Unterschiede in den stoffspezifischen Korrekturfaktoren zu erwarten sind. Im Falle des Cypermethrin ist nur eine Komponente vorhanden, so daß der Einfachheit halber die Peakhöhenauswertung vorgezogen wurde. Nach SCHOMBURG (1977) kann die Flächenauswertung auf verschiedene Art und Weise durchgeführt werden:

1. Handauswertung: Peakhöhe x Halbwertsbreite

2. Planimeterauswertung

3. Ausschneiden und Wägen der Peaks

4. Elektronische Integration

5. Computerauswertung

Nach JOHNSON und STEVENSON (1978) arbeitet die Gaschromatographie mit verschiedenen Standards:

1. internal standard (Normierung); ermittelt wird die

%-Fläche der Komponente zur Gesamtfläche des Chromatogramms,

2. external standard; gleichzeitige Analyse der Probe und eines zugegebenen Standards,

3. standard addition; getrennte gaschromatographische Analyse a) der natürlichen Probe und
   b) der Probe plus Standard

Instrumentelle Hilfsmittel zur Erhöhung der Analysengenauigkeit, ihrer Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit bilden "auto-sampler" und elektrische Integratoren.
Nach SCHOMBURG (1977) umfassen Integratoren folgende Aufgaben:

1. Bestimmung von Peakanfang, -maximum, -ende und -fläche,

2. Korrektur driftender Basislinien und

3. Ausdrucken der digitalen Endergebnisse mit Peakposition und -fläche.

Die Pfropfbreite sollte sehr viel kleiner als die Retentionszeit sein. Auch DE FAUBERT MAUNDER et al. (1964) sehen eine Abhängigkeit der Peakschärfe von der Injektionsgeschwindigkeit. Je schneller die Probe injiziert wird, desto deutlicher werden die Peaks. Auch zu dicht gepackte Säulen machen sich in der Trennschärfe bemerkbar.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 MATERIAL UND METHODIK

Ein Rind, zwei Schafe, zwei Schweine und zehn Hühner wurden nach Angaben des Herstellers mit Ardap behandelt, und nach einem bestimmten Zeitraum wurden Milch-, bzw. Gewebeproben entnommen. Unbehandelte Tiere lieferten die Kontrollproben. Nach entsprechender Vorreinigung der Proben erfolgte die gaschromatographische Rückstandsanalyse auf Cypermethrin.

3.1.1 TIERMATERIAL

Tab.13: Rasse, Geschlecht, Alter und Fütterung der behandelten und Kontrolltiere

	Rind	Schaf
Rasse und Geschlecht	1 Schwarzbunte Milchkuh	1 ♂ Merino Landschaf 1 ♀ Hybride aus Merino + Suffolk
	1 Kontrolltier: Schwarzb.Milchkuh	1 Kontrolltier: ♂ Merino Landschaf
Alter	ca. 3 Jahre (2 x gekalbt)	3 Monate (30 kg)
Fütterung	Heu, Kraftfutter, Rüben, Maissilage	Heu, Zuckerrübenschnitzel, Hafer

	Schwein	Huhn
Rasse und Geschlecht	2 ♀ Pietrain-Hybriden	10 Babcock Legehennen
	1 Kontrolltier: ♀ Pietrain-Hybride	2 Kontrolltiere: Babcock-Legeh.
Alter	ca. 10 Wochen (25 kg)	ca. 20 Monate (schlachtreif)
Fütterung	Club Fertigfutter	Club Legemehl

3.1.2 ART DER ANWENDUNG DES CYPERMETHRIN

Tab.14: Aufgewendete Menge Cypermethrin pro Tier und Temperaturangaben

	Rind	Schaf	Schwein	Huhn
Menge Ardap (ml)	10	75	4	10
pro Wassermenge (l)	1	50	1	1
Ardaplösung (%)	1	0,15	0,4	1
g Cyp./100 ml Lsg.	0,05	0,0075	0,02	0,05
aufgewendete Menge pro Tier (ml) ca.	650	Tauch-bad	300	60
Temp.der Lsg. (°C) ca.	18	25	18	18
Umgebungstemp.(°C) ca.	18	10	25	25

Alle Tiere wurden in der angegebenen Konzentration mit einer Gartenspritze besprüht, bis sie naß waren. Die Konzentrationen entsprachen den Empfehlungen des Herstellers, außer beim Huhn, bei dem die Behandlung empirisch erfolgte.
Für die einzelnen Tierarten erfolgte die Probenentnahme nach der Behandlung t_o in charakteristischen Zeitabständen t_{1-n}.

3.1.2 ART DER PROBENENTNAHME

Beim Rind wurde die Reinigung des Euters und die Entnahme der Milchproben aus dem Melkeimer von verschiedenen Personen durchgeführt, um eine Kontamination der Proben zu vermeiden. Bei den anderen Tieren erfolgte aus demselben Grund jede Probenentnahme mit frischem Messer und frischen Handschuhen.
Die Proben unbehandelter Tiere, die den Kontroll- und evt. Korrekturwert liefern sollten, wurden immer vor der Behandlung bzw. vor dem Schlachten der behandelten Tiere gewonnen.

Tab.15: Tötungsart, Zeitpunkt und Reihenfolge der Probenentnahmen von Schaf, Schwein und Huhn

	Schaf	Schwein	Huhn
Tötungsart	Bolzenschußapparat + Ausbluten	Bolzenschußapparat + Ausbluten	Betäubung + Ausbluten
Zeitpunkt der Probenentnahmen nach der Behandlung	t = 136 Stunden	t = 122 Stunden	jeweils 2 Tiere: t_1 = 5 Std. + 15 Min. t_2 = 29 Std. t_3 = 54 Std. t_4 = 77 Std. + 45 Min. t_5 = 100 Std.+ 40 Min.
Reihenfolge der Probenentnahmen	1) Musculus semitendinosus u. semimembranosus 2) Leber 3) Milz 4) Flomen 5) Niere	1) Bauchspeck + 2) Haut++ 3) Hinterbackmuskulatur+++ 4) Milz 5) Leber 6) Niere	1) Bauchhaut ++++ 2) Legefett 3) Brustmuskulatur 4) Leber 5) Milz 6) Niere

Anmerkungen zu Tab.15 siehe folgende Seite

Anmerkungen zu Tab.15:

\+ Da relativ wenig Bauchspeck vorhanden war, mußte, zwar mit einem frischem Messer und frischer Pinzette, aber doch entlang der Schnittstelle ausgeschabt werden. Eine gewisse Kontamination durch die Schnittstelle kann dadurch nicht ausgeschlossen werden.

++ Di. Haut auf der Hinterbacke wurde rasiert und ein ca. 10 cm großer Hautlappen entnommen.

+++ An der Entnahmestelle der Haut wurde auch die Muskulatur gewonnen.

++++ Die HÜhner wurden zuerst gerupft, dann die Bauchhaut mit einem Skalpell vorsichtig entfernt. Ein Teil davon diente als Probe.

Die Auswahl der Proben richtete sich nach dem Kriterium, ob sie als menschliche Nahrungsmittel dienen. Der Zeitpunkt der Probenentnahmen konnte aus organisatorischen GrÜnden leider nicht synchronisiert werden.
Bei der Milch wurden zu den Üblichen Melkzeiten die Entnahmen vorgenommen.

Tab.16: Zeitpunkte der Milchprobenentnahmen beim Rind

t_1	2	Stunden	und	45 Min.
t_2	15	"	"	30 Min.
t_3	26	"	"	45 Min.
t_4	39	"	"	30 Min.
t_5	50	"	"	45 Min.
t_6	63	"	"	30 Min.
t_7	74	"	"	45 Min.
t_8	87	"	"	30 Min.
t_9	93	"	"	45 Min.
t_{10}	111	"	"	30 Min.

3.1.4 VERWENDETE CHEMIKALIEN

Nach der Behandlung der Tiere und ihrer Probenentnahme erfolgte die eigentliche RUckstandsanalyse auf Cypermethrin. Sie teilte sich auf in einen chemischen der Vorreinigung dienenden und einen gaschromatographischen der qualitativen und quantitativen Analyse dienenden Teil.
FUr die Vorreinigung und die gaschromatographische Analyse wurden folgende Chemikalien verwendet:

1) Di-Kalium-Oxalat (Monohydrat , p.a., Merck Art. Nr. 5073) 5 g in 100 ml dest. Wasser gelöst

2) Äthanol (p.a., Merck Art. Nr. 983)

3) Diäthyläther (fUr die Spektroskopie, Merck Art. Nr. 930)

4) n-Hexan (zur RUckstandsanalyse, Merck Art. Nr. 4371)

5) Natriumsulfat ($Na_2 SO_4$ p.a., Mol.-Gewicht 142,04 Merck Art. Nr. 6649)

6) Petroläther (reinst, Merck Art. Nr. 1770)

7) Aceton (reinst, Merck Art. Nr. 13)

8) Acetonitril (Merck Art. Nr. 17)

9) Florisil (60 - 100 mesh, Merck Art. Nr. 12518)
Über Nacht (ca. 16h) bei 120° C aktiviert, im Exsikkator abgekUhlt und evt. fUr 2 - 3 Tage aufbewahrt. Vor dem Gebrauch wird mit 3 % Wasser desaktiviert.

Anmerkungen zu Florisil:
Florisil, hergestellt von der Floridin Company, Pittsburgh, ist in verschiedenen Korngrößen lieferbar. Es besteht aus 15,5 $\pm$ 0,5 % MgO, 84,0 $\pm$ 0,5 % SiO_2 und 0,5 % $Na_2 SO_4$.
Nach Angaben der Shell Chemie soll Florisil, 60 - 100 mesh, bei 120° C aktiviert, und anschließend mit 3 % Wasser desaktiviert werden. Eine Glas-

Chromatographiesäule mit 1 cm Innendurchmesser soll anscheinend mit 5 g desaktiviertem Florisil gefüllt werden (SHELL, 1977). Leider sind keine Angaben über die Dauer der Aktivierung vorhanden. Auch die Menge von 5 g Florisil konnte nicht übernommen werden. Es kostete viel Zeit und Geduld, um die richtigen Bedingungen herauszufinden, weswegen an dieser Stelle auf die Problematik näher eingegangen werden soll.
Im TECHNICAL BULLETIN der FLORIDIN COMPANY (1968) werden nur Angaben über die Termperaturhöhe gemacht: 650°C, für weniger aktives Material 260° C. BEVENUE et al. (1970) nehmen für den Pyrethrinnachweis eine 20 mm x 400 mm Chromatographie-Säule, die mit 20 g Florisil und 5 g $Na_2 SO_4$ gefüllt wird. Das Florisil, 60 - 80 mesh, wird 16 Stunden bei 130° C aktiviert. SCHEIDL et al. (1980) geben zum Nachweis von Pyrethrinen in Mehl eine Aktivierungstemperatur von 550° C für 5 Stunden und eine Aufbewahrungstemperatur von 130° C an. Nach eigenen Untersuchungen blieb die Gewichtsabnahme des Florisil nach 5 Stunden bei 120° C konstant. Um ganz sicher zu gehen, wurde letztendlich ca. 16 Stunden bei 120° C aktiviert. Die Säulenfüllmenge von 5 g konnte nicht übernommen werden, da wiederholt Störsubstanzen eluiert wurden, die die gaschromatographische Untersuchung erheblich beeinträchtigten, ja sogar unmöglich machten.
FASSBENDER (1975) untersuchte bei der Analyse von Hexachlorbenzol das Elutionsverhalten von Florisil:

Tab.17: Adsorptionsfähigkeit von Florisil (mit 3 % Wasser desaktiviert) bei 1 g Rohfett (Soxleth-Extraktion), Chromatographierohr 20 mm Ø, Lösungsmittel Petroleumbenzin (40° - 60° C)

Florisilmenge in g	Fett im Eluat in mg im Ø	Vorhandensein von Störsubstanzen
5	830	++++
10	620	+++
15	330	++
20	90	(+)
25	-	-
30	-	-

Aus Tab.17 ist zu entnehmen, daß mit zunehmender Florisilmenge sowohl Fett als auch Störsubstanzen im Eluat abnehmen. HILL (1979) benutzte bei der Untersuchung von Pyrethrinen eine 22 mm x 320 mm Säule und 30 g mit 5 % Wasser desaktiviertes Florisil.
In eigenen Eichversuchen wurde das Elutionsverhalten von verschiedenen mit 3 % Wasser desaktivierten Florisilmengen bei einer Probenaufgabe von 0,2 µg Cypermethrin untersucht. Die Elution des Cypermethrin erfolgte, wie unter 3.1.9.2 beschrieben, mit 50 ml 20 %igem Diäthyläther in n-Hexan. Das Eluat wurde in unterschiedlichen Fraktionen aufgefangen. Die gaschromatographische Untersuchung der Fraktionen ergab, daß das Cypermethrin im Eluat von 13 bis 40 ml enthalten war. Deshalb wurden bei der Analyse des Fettextraktes die ersten 13 ml verworfen und die folgenden 27 ml aufgefangen. Eine gewisse Sicherheitszone ist in diesen Werten schon enthalten, da sich das Adsorptionsverhalten von Florisil ändern kann. Eine Kontrolle durch wiederholte Eichversuche bzw. eine akzeptable Wiederfindungsrate ist notwendig.

10) 3 % OV-225 auf 100 - 120 mesh Gas Chrom Q als Trägermaterial

Anmerkung:

Gas Chrom Q bedeutet säuregewaschenes, Dichlordimethylsilan (DCDMS) behandeltes Gas Chrom S. Als Universalträger dient er zur Beladung mit einer stationären, flüssigen Phase, in diesem Fall OV-225.
Die mesh-Zahl ist ein Maß für die Korngröße des Trägers, wobei 100 - 120 mesh einer Korngröße von 0,125 - 0,15 mm entspricht.
Für die Analyse von Cypermethrin eignen sich am besten mäßig- bis mittelpolare Phasen, wie OV-225 oder GE XE-60, die einen Teil der Isomeren von Cypermethrin trennen. Die sich überlappenden Peaks haben ein charakteristisches Aussehen. Dies ist von großem Vorteil, da die Grundlinie manchmal nach charakteristischer Retentionszeit von ihrer Form abweichen kann und die Identifikation dadurch erleichtert wird.

3.1.5 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES ANALYSENGANGES

Zur besseren Übersichtlichkeit des nun folgenden Analysenganges (SHELL, 1977) sollen die einzelnen Untersuchungsschritte schematisch veranschaulicht werden.

Tab.18: Schematische Darstellung der einzelnen Analysenschritte

Fettgewinnung:
Milch: Verteilungschromatographie
Gewebe: Soxleth-Extraktion

Verteilungschromatographie:
Fett verteilt sich in n-Hexan, Cypermethrin in Acetonitril

Adsorptionschromatographie:
Restliches Fett und störende Substanzen werden an Florisil gebunden.

Gaschromatographische Analyse

3.1.6 PROBENVORBEHANDLUNG

Die Milch wurde in ca. 40 ml fassende und mit Gummistopfen verschließbare Glasfläschen, das tierische Gewebe in Petrischalen aufbewahrt. Alle Proben wurden bei - 18° C gelagert. Das Auftauen der Proben zur Analyse erfolgte über Nacht im Kühlschrank.
Pro Analysendurchgang konnten maximal 10 Proben untersucht werden. Acht Proben, möglichst Doppelproben, stammten von behandelten, 2 Proben von unbehandelten Tieren. Eine der letztgenannten Proben diente als

Blindwert, die andere wurde mit einem Standard (Cypermethrin in n-Hexan gelöst) versehen und zwar in unterschiedlicher Menge für die einzelnen Proben (s. Tab.20). Die Zugabe des Standards erfolgte grundsätzlich vor der Fettgewinnung: bei der Milch nach der Probeneinwaage, beim tierischen Gewebe auf die zermörserte, in den Faltenfilter überführte Probe.

3.1.7 FETTGEWINNUNG

Da Cypermethrin eine lipophile Substanz ist, reichert es sich im Fett an. Es mußte daher zunächst Fett gewonnen werden. Bei den flüssigen Milchproben wurde das Fett mittels Scheidetrichter ausgeschüttelt, die festen Gewebeproben wurden nach dem Soxleth-Verfahren extrahiert.

3.1.7.1 MILCH

Zur Analyse wurden 250 ml Rundkolben bei 105° C 1h im Trockenschrank getrocknet und im Exsikkator abgekühlt. In ein Glasgefäß wurden 20 g Milch eingewogen und anschließend quantitativ in einen 250 ml Scheidetrichter mit dest. Wasser als Spülflüssigkeit überführt. Man gab zwei ml Di-Kalium-Oxalat, 20 ml Äthanol, 40 ml Diäthyläther und 20 ml n-Hexan zu und schüttelte das Ganze zwei Minuten lang kräftig. Nach einigem Warten trennten sich 2 Schichten. Die untere wässrige Lösung wurde verworfen und die obere, Fett enthaltende Lösung, in einen getrockneten und ausgewogenen 250 ml Rundkolben (s.o) überführt. Die Lösung wurde bei ca. 70° C und vier rpm (rounds per minute) im Rotationsverdampfer eingeengt, 1h bei 105° C im Trockenschrank getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und gewogen.

3.1.7.2 TIERISCHES GEWEBE

Faltenfilter von ca. 30 cm Durchmesser wurden umgedreht, so daß ihre Spitze nach innen schaute, und im unteren Teil außerdem mit Watte gegen Durchreißen gesichert. Fünf Gramm Probe (bei der Hühnermilz aus Mengengründen nur 1 g) wurden zunächst mit einer Schere zerkleinert und anschließend mit einem Mörser mit ca. 3 g wasserfreiem Natriumsulfat zu einem trockenen Brei zerrieben. Natriumsulfat hat die Aufgabe, dem Gewebe das Wasser zu entziehen. Die obengenannten 3 g sind daher nur ein

Richtwert. Es müssen je nach Wassergehalt des Gewebes wechselnde Mengen Natriumsulfat zugegeben werden. Das Mahlgut wurde anschließend mit Watte quantitativ in den vorbereiteten Faltenfilter überführt Die Watte , zuletzt in den Faltenfilter gegeben, sollte gegen Aufschwemmen sichern. Am oberen Ende wurde der Filter durch Falten verschlossen und in einen 150 ml Extraktionsaufsatz gegeben.
Die Fettextraktion erfolgte 3h mit einem Gemisch aus 300 ml Petroläther und Aceton im Verhältnis 2 : 1.
Der Extrakt wurde in einem 250 ml Rundkolben aufgefangen, Glasstäbchen in den Kolben sollten Siedeverzug verhindern.
Nach SOXLETH hat die direkte Fettextraktion bei feuchten Proben 2 - 3 h, bei trockenen Proben 4 - 6h auf dem Wasserbad zu erfolgen (RAUSCHER et al. 1972). Nach den Erfahrungen des hiesigen Institutes genügen 30 Abheberungen, das entspricht etwa einer Extraktionszeit von 2,5h, um eine vollständige Fettextraktion zu erreichen.
Nach Abschluß der Fettgewinnung wurde mit 30 ml n-Hexan verdünnt und der Glasstab entfernt. Im Rotationsverdampfer erfolgte bei 70° C und 4rpm die Einengung fast bis zur Trockne, um Spuren von Aceton zu entfernen. Im Trockenschrank wurde der Extrakt schließlich bei 105°C von evt. vorhandenem Wasser befreit.

3.1.3 VERTEILUNGSCHROMATOGRAPHIE

Zur groben Abtrennung des Fettes von Cypermethrin führte man zunächst eine Verteilungschromatographie durch.
Der Extrakt wurde mit 10 ml n-Hexan gelöst und quantitativ durch zweimaliges Spülen mit 10 ml und 5 ml n-Hexan in einen 250 ml Scheidetrichter überführt.
Im Anschluß erfolgte die Auswaschung von Cypermethrin mit 25 ml Acetonitril. Es mußte sehr vorsichtig geschüttelt werden, um eine Emulsion zu vermeiden. Die obere Fett enthaltende Hexanphase und die untere Cypermethrin enthaltende Acetonitrilphase trennten sich nur langsam. Nachdem sich die Trennung deutlich vollzogen hatte, konnte die untere Phase in einem 250 ml Rundkolben aufgefangen werden. Der Vorgang wurde zweimal wiederholt. Anschließend erfolgte die Einengung der Lösung bis auf kleine Reste im Rotationsverdampfer

bei 50° C und 4rpm.
Nach Zusatz von 25 ml n-Hexan wurden bei 70° C und 4rpm Spuren von Acetonitril im Rotationsverdampfer entfernt. Dreißig Minuten im Trockenschrank bei 105° C brachten den Extrakt zur völligen Trocknung.

3.1.9 CHROMATOGRAPHISCHE REINIGUNG DES ROHEXTRAKTES

3.1.9.1 VORBEREITUNG DER FLORISILSÄULE

Eine Glaschromatographiesäule mit 1 cm Innendurchmesser wurde zuunterst mit etwas Glaswolle gestopft und anschließend mit 20 % Diäthyläther in n-Hexan gefüllt. Die Füllung der Säule mußte langsam und unter vorsichtigem Klopfen erfolgen, so daß sich die 7,5 g Florisil gut setzen konnten. Anschließend wurde die Flüssigkeitssäule bis auf den Meniskus abgelassen.
Um störende Substanzen für die sich anschließende Gaschromatographie aus der Florisilsäule zu entfernen, mußte zuerst mit 20 % Diäthyläther in n-Hexan und dann mit n-Hexan, jeweils 20 ml und etwa 1 Tropfen/sec., gewaschen werden.
Die Tropfgeschwindigkeit von 1 Tropfen/sec. wurde auch im folgenden eingehalten. Die Säule durfte nie leerlaufen und das Florisil mußte immer mit einem Flüssigkeitsmeniskus bedeckt sein.

3.1.9.2 PROBENAUFGABE UND ELUTION

Der Trockenrückstand aus 3.1.8 wurde zunächst in fünf ml n-Hexan gelöst. Davon wurden 0,5 ml, bei der Hühnermilz 2,5 ml, auf den Flüssigkeitsmeniskus der Säule gegeben und langsam bis zum Meniskus abgelassen. Anschließend ließ man 20 ml n-Hexan wiederum bis zum Meniskus durchlaufen und verwarf alle Eluate. Den Schluß bildeten 40 ml 20 % Diäthyläther in n-Hexan, die ebenfalls auf die Säule gegeben wurden. Die ersten 13 ml wurden noch verworfen, die restlichen das Cypermethrin enthaltenden 27 ml jedoch aufgefangen.
Im Rotationsverdampfer wurde das Eluat bei 70° C und 4rpm eingeengt und durch mehrmaliges Spülen mit n-Hexan in 1,9 ml fassende Probengefäße überführt.

3.1.10 GASCHROMATOGRAPHISCHE ANALYSE DES REINEXTRAKTES

3.1.10.1 SÄULENFÜLLUNG UND KONDITIONIERUNG

Die Trennsäule des Gaschromatographen mußte nach ihrer Füllung und vor der Inbetriebnahme konditioniert werden.
Die Glassäule, 1 m lang und mit 3 mm Innendurchmesser, wurde zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol und zum Schluß mit Aceton gespült, wobei nach jeder Spülung die Säule im Trockenschrank von Lösungsmittelresten befreit wurde. Da Glas eine aktive Oberfläche aus Aluminium- und Natrium-Oxiden besitzt, mußte anschließend 1h bei 100° C siliconisiert werden, wodurch es zu einer Veresterung der aktiven Gruppen kam.
Mittels einer Saugpumpe, eines Vibrators und mehrmaligen Erhitzens wurde die Säule mit OV-225 gefüllt. Beide Enden wurden mit siliconisierter Glaswolle verschlossen. Auf der Injektorseite sollte sehr wenig Glaswolle verwendet werden, da es trotz des Siliconisierens zu Wechselwirkungen und Abbauerscheinungen des Cypermethrins kommen könnte.
Die Konditionierung der Säule bei 250°C und einem geringen Durchfluß fand 4 - 5 Tage lang statt, um die Säule von Verunreinigungen und Lösungsmittelresten zu befreien.

3.1.10.2 ARBEITSBEDINGUNGEN DES GASCHROMATOGRAPHEN

Zur gaschromatographischen Analyse stand ein Gaschromatograph der Firma Hewlett Packard, Modell 5710 A, zur Verfügung, der mit einem Ni^{63} -Elektronenfangdetektor (ECD) ausgestattet war.

Säulen- und Ofentemperatur	250° C
Injektortemperatur	300° C
Detektortemperatur	300° C
Träger- und Spülgas Argon/Methan	95/5
Säulenvordruck	1,7 bar
Durchflußgeschwindigkeit	31,5 ml/min
Retentionszeit	7 Minuten
Abschwächung	8, bzw. 64 Einheiten bei Hühnerhaut

3.1.10.3 PROBENINJEKTION UND BERECHNUNGEN

Zur gaschromatographischen Analyse wurde mit einer 10 µl-Spritze manuell injiziert. Unterschiedliche Injektionsgeschwindigkeiten können leicht unterschiedliche Retentionszeiten bedingen. Folgende Lösungen wurden eingespritzt:

1) Blindwert B
   Der Blindwert ist die Aufreinigung und Analyse von Probenmaterial des Kontrolltieres. Die dabei ermittelten Konzentrationen an Cypermethrin, die null sein sollten, können auf eine Cypermethrin-Kontamination des Lösungsmittels, der verwendeten Chemikalien oder der Geräte zurückgeführt werden. Der Blindwert dient der Korrektur der Ergebnisse.

2) Standard S_x
   Standardlösungen von Cypermethrin in n-Hexan werden in der Konzentration eingespritzt, die theoretisch in 2 µl von S_y nach dem Probendurchgang noch vorhanden sein müßte. S_x dient der Berechnung der Wiederfindungsrate R von S_y:

$$R = \frac{(S_y - B)}{S_x} \times 100$$

3) Standard S_y
   Standardlösungen von Cypermethrin in n-Hexan werden zu Probenmaterial von Kontrolltieren zugegeben, das aufgereinigt und analysiert wird. Mit diesen Extrakten wurde der Gaschromatograph geeicht. Typische Chromatogramme mit den dazugehörigen Eichkurven sind in Abb.5,6,7,8,9,10,12,13 und 14 dargestellt.

4) Proben
   Probenmaterial behandelter Tiere wird nach der Aufreinigung der Analyse zugeführt.

Von Blindwert und Proben wurden 2 µl, vom Standard S_y wurden für die Eichkurve 1 µl, 2 µl und 4 µl und vom Standard S_x wurde die jeweilige, theoretisch errechnete Cypermethrin-Konzentration, die in S_y noch vor-

handen sein müßte, eingespritzt.
Cypermethrin erschien auf dem Chromatogramm als zwei sich überlappende Peaks, die das Ergebnis einer unvollständigen Isomeren-Auftrennung sind. Bei den beiden Peaks könnte es sich um die entsprechenden cis- bzw. trans-Isomeren handeln. Neben der Retentionszeit war die charakteristische Peakform ein Kriterium für die qualitative Analyse von Cypermethrin.
Sämtliche Proben wurden, wenn möglich, zweimal aufgereinigt und die Extrakte wiederum zweimal in den Gaschromatographen eingespritzt. Nach Mittelung der zusammengehörenden Peakhöhen und nach Abzug des evt. vorhandenen Blindwertes wurde die in den Gaschromatographen eingespritzte Konzentration des in den Proben enthaltenen Cypermethrins anhand der Eichkurve von S_y ermittelt. Durch Rückrechnung, unter Beachtung der eingewogenen Probenmenge, der Extraktmenge, welche auf die Florisilsäule gegeben wurde (s. 3.1.9.2) und der in den Gaschromatographen eingespritzten Menge (immer 2 µl) läßt sich der tatsächliche Cypermethringehalt in µg/g Probe ermitteln. Angaben hierzu enthält Tab.19.

Tab.19: Angaben für die quantitative Analyse von Cypermethrin

	Eingewogene Menge (g)	Probenaufgabe aus 3.1.9.2
Milch	20	0,5
Tierisches Gewebe, außer Haut und Milz vom Huhn	5	0,5
Haut, Huhn	5	0,5
Milz, Huhn	5	2,5

Der Bezugswert bei der quantitativen Analyse der Proben war immer der Peak von S_y. Da die Cypermethrinmenge vor der Probenaufbereitung zugegeben wurde, war der Gehalt an Cypermethrin in µg/g Standardprobe bekannt.

Durch die Vorreinigung der Proben ging in den meisten Fällen ein geringer Teil des Cypermethrin verloren. Aufgrund dieser Tatsache war die Berechnung der Wiederfindungsrate von großem Interesse. Voraussetzung für die Berechnung von R sind B, S_y und S_x. S_x entspricht der Menge Cypermethrin in ng, die nach dem Probendurchgang in 2 µl S_y noch vorhanden sein mußte. Die Nachweisgrenze, d.h. die kleinste noch nachweisbare Cypermethrinmenge lag bei 1/20 von S_x (Tab.20).

Tab.20: Angaben zum Cypermethringehalt in den Standards S_y und S_x, sowie Auflistung der Nachweisgrenze

	S_y (µg Cyp. pro eingewogene Menge Probe)	S_x (µg Cyp. pro g Probe)	S_x (ng Cyp. in 2 µl S_y	Nachweisgrenze ng/2 µl	µg/g Probe
Milch	1 µg/ 20 g	0,05 µg/g	0,1 ng/2 µl	0,005	0,0025
Tierisches Gewebe, außer Haut und Milz vom Huhn	1,25 µg/5 g	0,25 µg/g	0,13 ng/2µl	0,0065	0,0125
Haut, Huhn	12,5 µg/5 g	2,5 µg/g	1,3 ng/ 2µl	0,065	0,125+
Milz, Huhn	0,25 µg/1 g	0,25 µg/g	0,13 ng/2µl	0,0065	0,0125

+ Die relativ hohe Nachweisgrenze der Hühnerhaut ist darin begründet, daß bei einer anderen Abschwächung eingespritzt wurde, nämlich bei A 64 und nicht, wie bei allen anderen Proben, bei A 8.

3.2 ERGEBNISSE

3.2.1 WIEDERFINDUNGSRATE, BLINDWERT UND STANDARDWERTE

Zunächst galt es, die Wiederfindungsrate R anhand der Peakhöhen von Blindwert B und Standardwerten S_x bzw. S_y zu errechnen (s. auch 3.1.10.2). B, S_x und S_y wurden zweimal in den Gaschromatographen eingespritzt. Nach Mittelung der Peakhöhen (Ø Peakhöhe) und nach Abzug des Blindwertes von S_y (Ø-B) konnte die Wiederfindungsrate des Cypermethrin ermittelt werden. Von Interesse war auch die durchschnittliche Wiederfindungsrate R für Schaf, Schwein und Huhn.
Im Laufe der Einspritzungen nahm die Empfindlichkeit der Säule zu, d. h. auch der Peak von S_x, der ja immer gleich sein sollte, wurde immer höher. Da die Auflistung der Ergebnisse jedoch in der Reihenfolge der Probenentnahmen und nicht in der Reihenfolge der Einspritzung erfolgte, kann man die zunehmende Steilheit der Peaks nicht aus der Liste ersehen.

3.2.1.1 MILCH

Tab.21: Wiederfindungsrate von Cypermethrin in den Milchproben

	Peakhöhe (cm)	Ø Peakhöhe(cm)	Fett (%)
B	0 0	0	3,67
S_x(0,1ng)	4,4 5,1 4,8 5,2	4,8	
S_y	4,4 4,2	4,3	3,74
R = 90%			

In der Milch wurde demnach eine Wiederfindungsrate (R) von 90% für Cypermethrin ermittelt.

3.2.1.2 SCHAF

Tab.22: Wiederfindungsrate von Cypermethrin in den Schafproben

Muskel	Peakhöhe (cm)	Ø Peakhöhe (cm)	Ø-B
B	0 0	0	0
S_x(0,13ng)	6,0 6,0	6,0	
S_y	4,0 5,0	4,95	4,95
R = 83 %			
Leber			
B	2,6 3,4	3,0	
S_x(0,13ng)	6,1 6,3	6,2	
S_y	7,0 7,3	7,15	4,15
R = 66 %			
Milz			
B	2,0 1,8	1,9	
S_x(0,13ng)	6,0 6,0	6,0	
S_y	5,0 5,0	5,0	3,1
R = 52 %			
Flomen			
B	0 0	0	
S_x(0,13ng)	4,2 4,3	4,25	
S_y	3,8 4,0	3,9	3,9
R = 92 %			
Niere			
B	0 0	0	
S_x(0,13ng)	4,2 4,3	4,25	
S_y	3,8 4,0	3,9	3,9
R = 92 %			

Anhand der ermittelten Wiederfindungsraten (R) für Cypermethrin in der Muskulatur (83 %), in der Leber (66 %), in der Milz (52 %), im Flomen (92 %) und in der Niere (92 %) läßt sich eine durchschnittliche Wiederfindungsrate (R) von 77 % für Cypermethrin in den Schafproben errechnen.

3.2.1.3 SCHWEIN

Tab.23: Wiederfindungsrate von Cypermethrin in den Schweineproben

Bauchfett	Peakhöhe (cm)	Ø Peakhöhe (cm)	Ø-B
B	0 0	0	
S_x(0,13ng)	4,5 4,5	4,5	
S_y	3,8 3,8	3,8	3,8
R = 84 %			
Haut			
B	0 0	0	
S_x(0,13ng)	4,0 4,0	4,0	
S_y	3,2 3,2	3,2	3,2
R = 80 %			
Muskulatur			
B	0 0	0	
S_x(0,13ng)	4,0 4,0	4,0	
S_y	4,5 4,3	4,4	4,4
R = 110 %			
Milz			
B	0 0	0	
S_x(0,13ng)	2,0 2,2	2,1	
S_y	2,3 2,3	2,3	2,3
R = 110 %			
Leber			
B	0 0	0	
S_x(0,13ng)	2,5 2,9	2,7	
S_y	2,4 2,4	2,4	2,4
R = 89 %			

Niere				
B	0	0	0	
S_x(0,13ng)	2,5	2,9	2,7	
S_y	3,2	3,2	3,2	3,2
R = 119 %				

Anhand der ermittelten Wiederfindungsraten (R) für Cypermethrin im Bauchfett (84 %), in der Haut (80 %), in der Muskulatur (110 %), in der Milz (110 %), in der Leber (89 %) und in der Niere (119%) läßt sich eine durchschnittliche Wiederfindungsrate (R) von 99 % für Cypermethrin in den Schweineproben errechnen.

3.2.1.4 HUHN

Tab.24: Wiederfindungsrate von Cypermethrin in den Hühnerproben

Haut	Peakhöhe (cm)		∅ Peakhöhe (cm)	∅-B
B	0	0	0	
S_x(1,3ng)	7,2	8,1	7,65	
S_y	7,2	7,6	7,4	7,4
R = 97 %				
Legefett				
2bar				
B	0	0	0	
S_x(0,13ng)	4,3	4,3	4,3	
S_y	4,3	4,3	4,3	4,3
R = 100 %				
2,2bar				
B	0	0	0	
S_x(0,13ng)	5,6	5,6	5,6	
S_y	4,5	4,6	4,55	4,55
R = 81 %				

Muskel	Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)	Ø-B
B1.1-4.2	0	0	0	
S_x(0,13ng)	5,3	5,9	5,6	
S_y	5,4	5,6	5,5	5,5
R = 98,2 %				
B5.1-8.2	0,6	0,7	0,65	
B9.1-10.2	1,3	1,3	1,3	
Leber				
B	0,8	0,9	0,85	
S_x(0,13ng)	6,6	6,8	6,7	
S_y	5,9	5,8	5,85	5,0
R = 75 %				
Milz				
B	1,3	1,0	1,15	
S_x(0,13ng)	6,2	6,2	6,2	
S_y	6,2	6,1	6,15	5,0
R = 81 %				
Niere				
B1-3.2	1,3	1,3	1,3	
S_x(0,13ng)	6,2	6,2	6,2	
S_y	7,6	7,8	7,7.	6,4
R = 103 %				
B4.1-8.1	0,6	0,6	0,6	
B8.2-10.2	1,0	1,0	1,0	

Anhand der ermittelten Wiederfindungsraten (R) für Cypermethrin in der Haut (97 %), im Legefett (100 %) bzw.(81 %), in der Muskulatur (98,2 %), in der Leber (75 %), in der Milz (81 %) und in der Niere (103 %) läßt sich eine durchschnittliche Wiederfindungsrate (R) von 91 % für Cypermethrin in den Hühnerproben errechnen. Bei der Haut des Huhnes erfolgte die Einspritzung im Gegensatz zu allen anderen Proben nicht

bei Abschwächung 8, sondern bei Abschwächung 64, wodurch sich die Peakhöhe verständlicherweise verringerte.
Beim Legefett erfolgte die Einspritzung im Gegensatz zu den anderen Proben in eine ältere Säule und demnach auch bei einem anderen Druck, der verändert werden mußte, um die charakteristische Retentionszeit aufrechtzuerhalten.
Muskulatur und Niere der Hühner wiesen in den verschiedenen Probendurchgängen unterschiedliche Blindwerte auf. Da die entsprechenden Proben keine Rückstände enthielten (s. Tab.37 und 40), wurde die Wiederfindungsrate nur für den ersten Probendurchgang errechnet.
Der besseren Übersicht wegen sollen die Wiederfindungsraten noch einmal tabellarisch zusammengefaßt werden.

Tab.25: Wiederfindungsraten der Milch-, Schaf-, Schwein- und Hühnerproben

		R (%)	R (%)
Milch		90	90
Schaf	Muskel	83	
	Leber	66	
	Milz	52	77
	Flomen	92	
	Niere	92	
Schwein	Bauchfett	84	
	Haut	80	
	Muskel	110	
	Milz	110	99
	Leber	89	
	Niere	119	
Huhn	Haut	97	
	Legefett		
	2,0 bar	100	
	2,2 bar	81	
	Muskel	98	91

Leber	75
Milz	81
Niere	103

Die Wiederfindungsrate sämtlicher Proben lag demnach bei 89 %.

3.2.2 ERGEBNISSE DER AUFBEREITETEN PROBEN

Die aufbereiteten Proben wurden zweimal in einer Menge von 2 µl in den Gaschromatographen eingespritzt und die Peakhöhen ermittelt. Zusammengehörende Ergebnisse, d.h. die Peakhöhe der doppelt aufbereiteten wie auch der zweimal eingespritzten Proben wurden gemittelt. Um ein relativ repräsentatives Ergebnis für die einzelnen Gewebeproben der Tierarten zu erhalten, mußte der Durchschnitt beider Schweine und Schafe, sowie jeweils zweier Hühner, die am gleichen Tag getötet wurden, ermittelt werden.
In den folgenden Tabellen werden doppelt aufbereitete Proben als Probe 1 und 2, die beiden Schafe und Schweine als I und II bezeichnet, wobei I das zuerst und II das zuletzt getötete Tier bedeutet. Von den zehn Hühnern wurden an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeweils zwei Tiere getötet (s. Tab.15), die analog zu oben mit I + II, III + IV, V + VI, VII + VIII und IX + X bezeichnet werden. Die Milchprobenentnahme der behandelten Kuh erfolgte ebenfalls an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeweils morgens und abends. Die Bezeichnung t_{1-10} richtet sich nach Tabelle 16.

3.2.2.1 MILCH

Tab.26: Cypermethringehalt in den Milchproben

		Fett (%)	Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)
t_1	Probe 1	3,41	0	0	0
	Probe 2	3,45	0	0	0
t_2	Probe 1	4,05	0	0	0
	2	4,08	0	0	0
t_3	Probe 1	3,2	0	0	0
	2	3,5	0	0	0
t_4	Probe 1	3,72	0	0	0
	2	3,63	0	0	0
t_5	Probe 1	3,59	0	0	0
	2	3,57	0	0	0
t_6	Probe 1	3,44	0	0	0
	2	3,51	0	0	0
t_7	Probe 1	3,32	0	0	0
	2	3,27	0	0	0
t_8	Probe 1	3,54	0	0	0
	2	3,44	0	0	0
t_9	Probe 1	3,48	0	0	0
	2	3,34	0	0	0
t_{10}	Probe 1	3,38	0	0	0
	2	3,40	0	0	0

Der Fettgehalt der Milch wurde aus dem Grund ermittelt, um den evt. vorhandenen Cypermethringehalt auf Fettbasis umrechnen zu können. Doch war bei einer Nachweisgrenze von 0,0025 µg Cypermethrin /g Milch (Tab.20) kein Cypermethrin in den ersten fünf Tagen nach der Behandlung nachweisbar.

3.2.2.2 SCHAF

Tab.27: Cypermethringehalt in den Schafproben

	Peakhöhe (cm)		ø Peakhöhe (cm)		ø - B
Muskel					
I. Probe 1	0	0	0		
2	0	0	0		
II.Probe 1	0	0	0	0	0
2	0	0	0		
Leber					
I. Probe 1	2,3	1,7	2,0		
2	2,5	2,5	2,5		
II.Probe 1	1,9	2,0	1,95	2,2	0
2	2,2	2,5	2,35		
Milz					
I. Probe 1	0,9	1,5	1,2		
2	1,6	1,6	1,6		
II.Probe 1	1,0	0,9	0,95	1,21	0
2	1,1	1,1	1,1		
Flomen					
I. Probe 1	0	0	0		
2	0	0	0		
II.Probe 1	0	0	0	0	0
2	0	0	0		
Niere					
I. Probe 1	0	0	0		
2	0	0	0		
II.Probe 1	0	0	0	0	0
2	0	0	0		

Die Leber-, wie auch die Milzproben waren infolge längerer Aufbewahrung im Kühlschrank ausgetrocknet und deswegen stark kontaminiert. Jedoch war nach Abzug des Blindwertes und bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cypermethrin/g Probe (Tab.20) am fünften Tag in keiner der Schafproben Cypermethrin nachweisbar.

3.2.2.3 SCHWEIN

Tab.28: Cypermethringehalt in den Schweineproben

		Peakhöhe (cm)		∅ Peakhöhe (cm)		∅ - B
Bauchfett						
I. Probe	1	1,3	1,4	1,35		
	2	2,3	2,2	2,25		
II.Probe	1	2,4	2,1	2,25	2,13	2,13
	2	2,7	2,7	2,7		
Haut						
I. Probe	1	1,3	1,3	1,3		
	2	1,0	1,0	1,0		
II.Probe	1	1,3	1,4	1,35	1,3	1,3
	2	1,6	1,6	1,6		
Muskel						
I. Probe	1	0	0	0		
	2	0	0	0		
II.Probe	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		
Milz						
I. Probe	1	0	0	0		
	2	0	0	0		
II.Probe	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		
Leber						
I. Probe	1	0	0	0		
	2	0	0	0		
II.Probe	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		
Niere						
I. Probe	1	0	0	0		
	2	0	0	0		
II.Probe	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		

Während bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cypermethrin/g Probe (Tab.20) weder bei Muskel, Milz, Leber noch Niere Cypermethrin nachgewiesen werden konnte, verlief die Rückstandsanalyse von Bauchfett und Haut der Schweine am 5. Tag positiv.
In Abb. 5 und 7 sind die Chromatogramme von Blindwert, S_y, S_x und Probe I.1 des Bauchfettes und der Haut dargestellt. In beiden Fällen ist der Peak von S_y niedriger als der von S_x. Bei einer Wiederfindungsrate von 84 % bzw. 80 %(Tab.25) bedeutet das, daß bei der Probenaufbereitung 16 %, bzw. 20 % des Cypermethrin verlorengegangen sein müssen. Die beiden in ihrer charakteristischer Form überlappenden Peaks finden sich auch in der Probe wieder, wie in den Abbildungen zu sehen ist.
Anhand der Eichkurven von S_y (Abb. 6 und 8, Tab.25 und 26) läßt sich der tatsächliche Cypermethringehalt pro g Fett, bzw. Haut ermitteln.

Abb. 5:
Chromatogramme
Schwein, Bauchfett

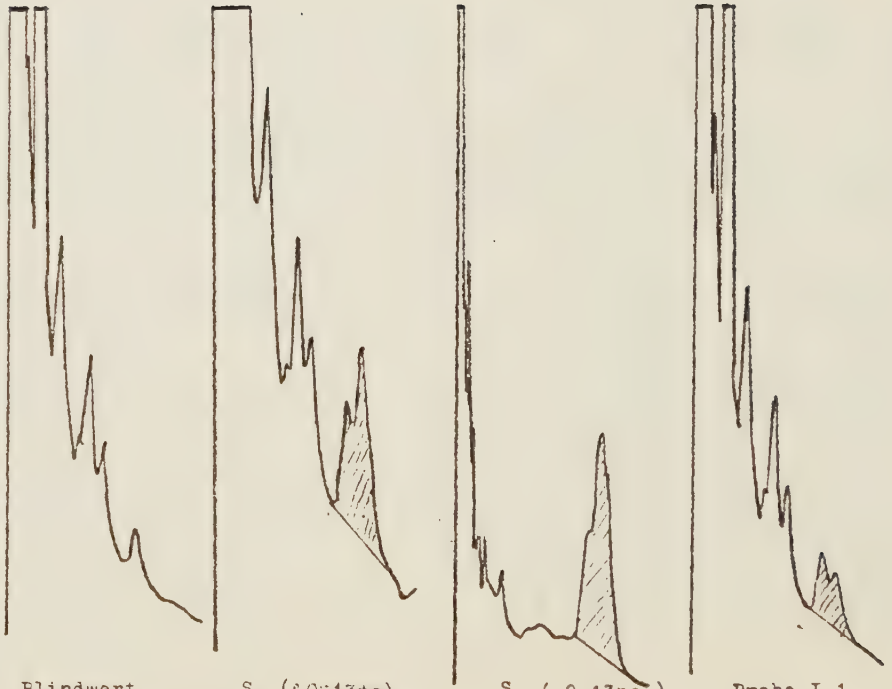
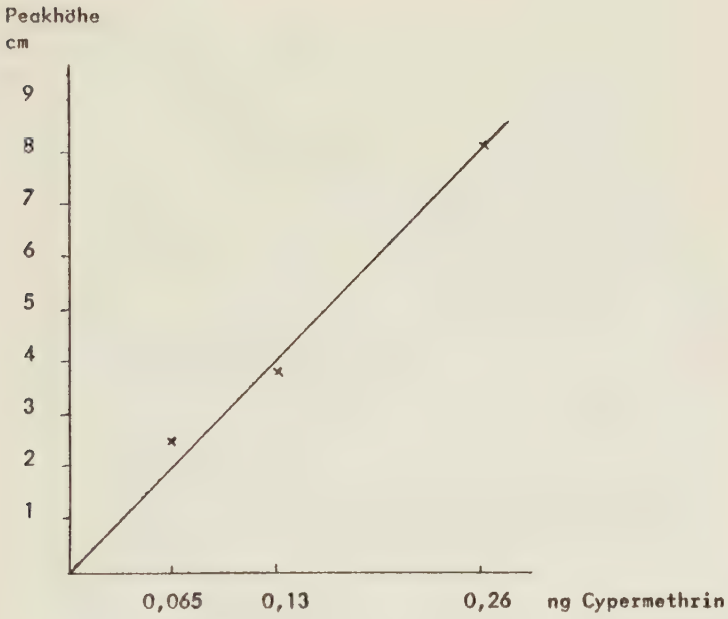


Abb.6: Eichkurve Schwein, Bauchfett



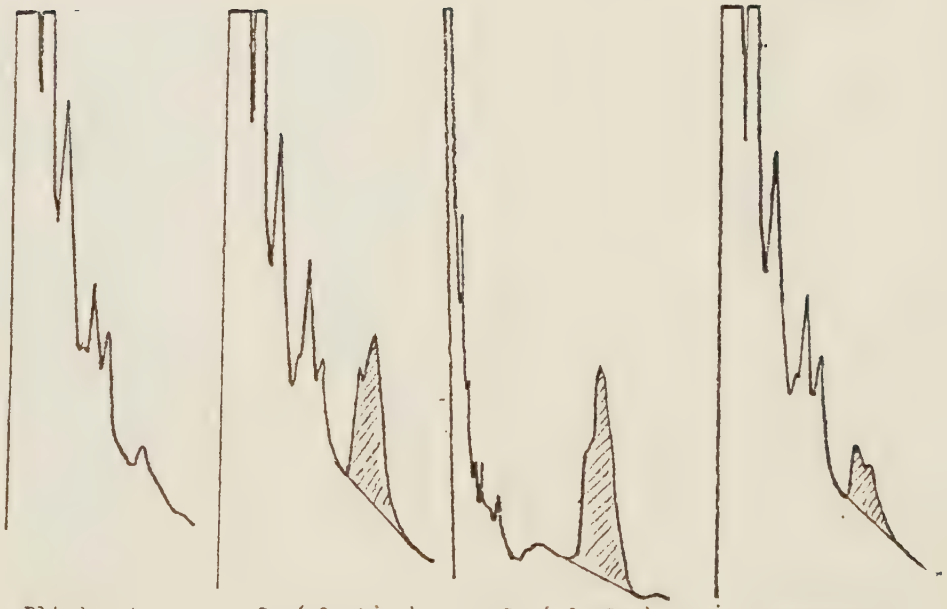
Tab. 29: Werte für die Eichkurve

S_y (ng)	Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)
0,065	2,6	2,4	2,5
0,13	3,8	3,8	3,8
0,27	8,2	8,2	8,2

Anhand der Eichkurve kann der Cypermethrin-Rückstand berechnet werden, d.h. eine Peakhöhe von 2,13 cm der gemittelten Proben (Tab.28) entspricht:

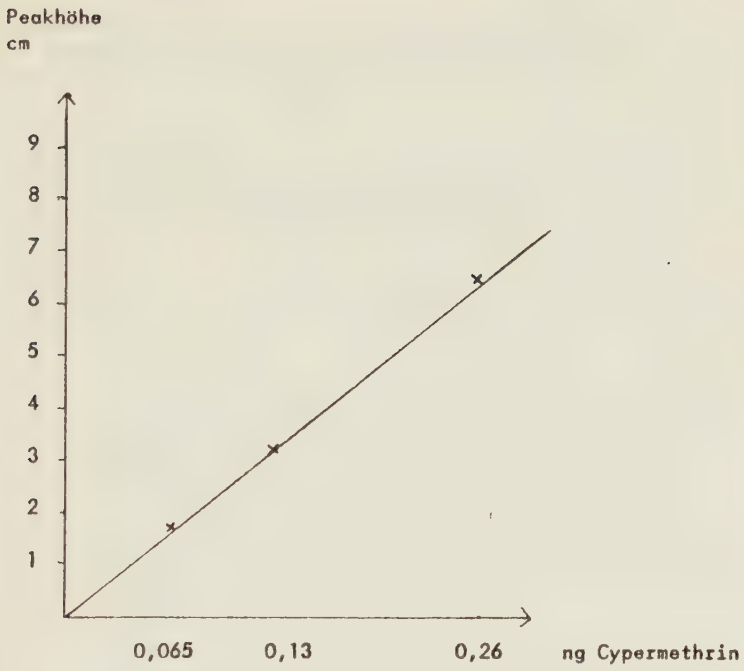
0,072 ng Cypermethrin
0,137 µg Cypermethrin/g Bauchfett

Abb.7
Chromatogramme
Schwein, Haut



Blindwert | S_y (0,13ng) | S_x (0,13ng) | Probe I.1

Abb 8: Eichkurve Schwein, Haut



Tab.30: Werte für die Eichkurve

S_y (ng)	Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)
0,065	1,7	1,7	1,7
0,13	3,3	3,1	3,2
0,26	6,5	6,6	6,55

Eine Peakhöhe von 1,3 cm der gemittelten Proben (Tab.28) entspricht:

0,048 ng Cypermethrin
0,093 µg Cypermethrin/g Haut

3.2.2.4 HUHN

Tab.31: Cypermethringehalt in den Hautproben der HUhner

		Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)	Ø - B
I.	Probe 1	4,9	4,7	4,8	
	2	22,0	22,7	22,35	
II.	Probe 1	2,6	2,8	2,7	11,83	11,83
	2	16,8	18,2	17,5	
III.	Probe 1	3,4	3,5	3,45	
	2	5,1	5,3	5,2	
IV.	Probe 1	3,5	3,2	3,35	3,7	3,7
	2	2,8	2,8		
V.	Probe 1	4,0	4,1	4,05	
	2	3,9	3,7	3,8	
VI.	Probe 1	1,8	1,8	1,8	2,61	2,61
	2	0,8	0,8	0,8	
VII.	Probe 1	1,0	1,0	1,0	
	2	0,9	0,9	0,9	
VIII.	Probe 1	1,1	1,2	1,15	0,99	0,99
	2	0,9	0,9	0,9	
IX.	Probe 1	4,8	4,8	4,8	
	2	1,5	1,5	1,5	
X.	Probe 1	2,0	1,9	1,95	2,68	2,68
	2	2,5	2,5	2,5	

In der HUhnerhaut wurden so hohe Cypermethrinwerte gefunden, daß bei Abschwächung 64 eingespritzt werden mußte. Abb. 9 veranschaulicht u.a. die Wiederfindungsrate von 97 %. Anhand der Eichkurve (Abb.10, Tab.32) läßt sich der Cypermethringehalt pro Probe ermitteln (Tab.33)und in Abhängigkeit von der Zeit darstellen (Abb.11).

Abb. 9
Chromatogramme
Huhn, Haut

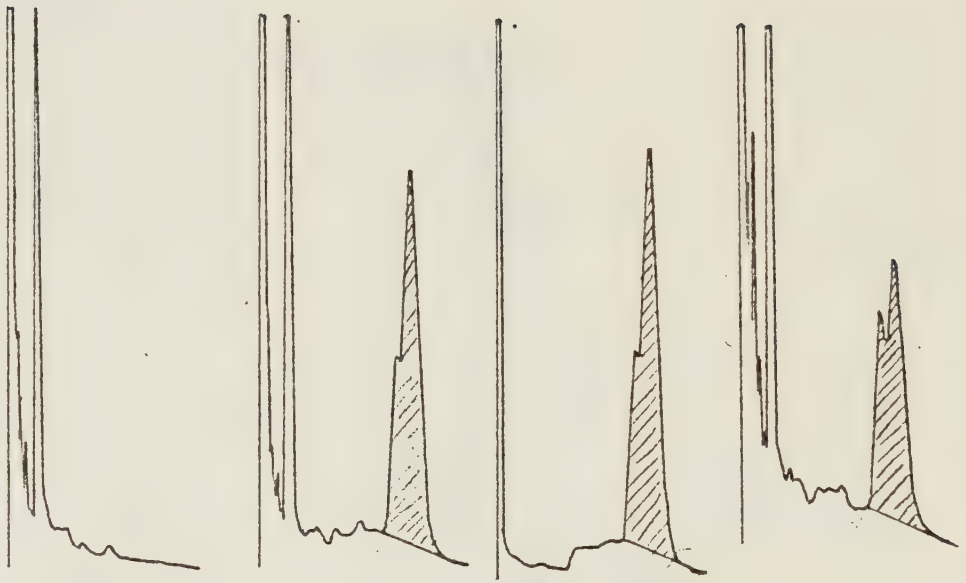
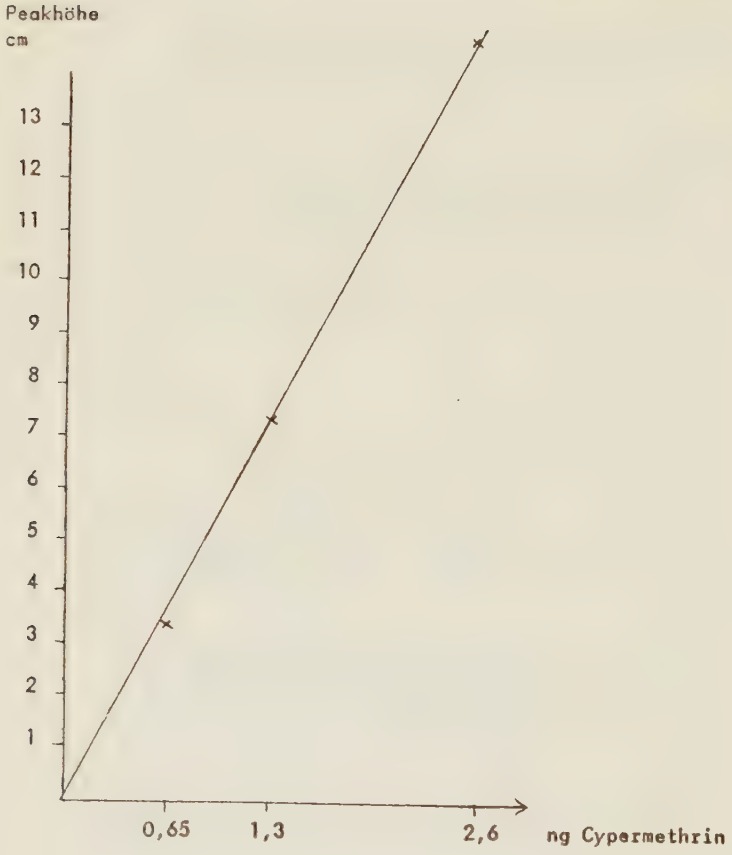


Abb.10: Eichkurve Huhn, Haut



Tab.32: Werte für die Eichkurve

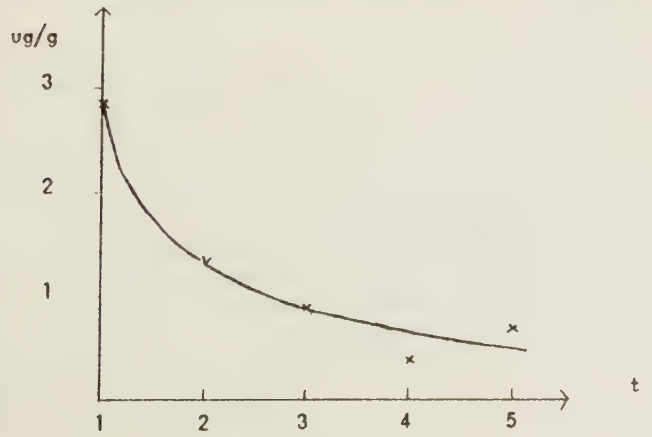
S_y (ng)	Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)
0,65	3,3	3,5	3,4
1,3	7,2	7,6	7,4
2,6	14,6	14,8	14,7

Tab.33: Berechnung des Cypermethrin-Rückstandes auf der Haut des Huhnes in Abhängigkeit von der Zeit

	Peakhöhe (cm)	µg Cyperm./g Haut
t_1	11,33	4,0
t_1 - I.2	8,33	2,81
t_2	3,7	1,31
t_3	2,61	0,875
t_4	0,99	0,375
t_5	2,68	0,93
t_5 - IX.1	1,98	0,68

An den fünf aufeinanderfolgenden Tagen nach der Behandlung wurden bei je zwei Hühnern unterschiedlich hohe Durchschnittswerte gemessen (Tab.31), aus denen sich anhand der Eichkurve der Cypermethringehalt der Haut errechnen läßt (Tab.33). Die Bezeichnung t_{1-5} wurde aus Tab. 15 übernommen. Da die Werte von I.2 und IX.1 stark streuten, wurden sie in Abb. 10 nicht mit ins Schaubild aufgenommen.

Abb. 11: Gehalt an Cypermethrin in der Hühnerhaut in Abhängigkeit von der Zeit



Tab.34: Cypermethringehalt in den Legefettproben der Hühner

		Peakhöhe (cm)		∅ Peakhöhe (cm)		∅ - B
2,0 bar						
I.	Probe 1	0	0	0		
	2	0	0	0		
II.	Probe 1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		
III.	Probe 1	1,5	1,6	1,55		
	2	2,1	2,2	2,15		
IV.	Probe 1	1,2	1,0	1,1	1,45	1,45
	2	1,1	1,0	1,05		
V.	Probe 1	0,3	0,3	0,3		
	2	0,4	0,4	0,4		
VI.	Probe 1	2,9	2,9	2,9	1,63	1,63
	2	3,0	2,9	2,95		
2,2 bar						
VII.	Probe 1	0,9	0,9	0,9		
	2	0,9	0,9	0,9		
VIII.	Probe 1	0,4	0,4	0,4	0,775	0,775
	2	1,0	0,8	0,9		
IX.	Probe 1	0,7	0,7	0,7		
	2	0,8	0,6	0,7		
X.	Probe 1	2,6	2,6	2,6	1,837	1,837
	2	3,0	3,7	3,45		

Im Legefett wurde ebenfalls Cypermethrin gefunden, jedoch bei Abschwächung 8. Abb. 12 veranschaulicht u.a. die Wiederfindungsrate von 100 % bei 2 bar. Anhand der Eichkurven bei 2 bar und 2,2 bar (Abb 13, 14, Tab.35, 36) läßt sich der Cypermethringehalt pro Probe ermitteln (Tab.37) und in Abhängigkeit von der Zeit darstellen (Abb.15).

Abb. 12
Chromatogramme
Huhn, Legefett

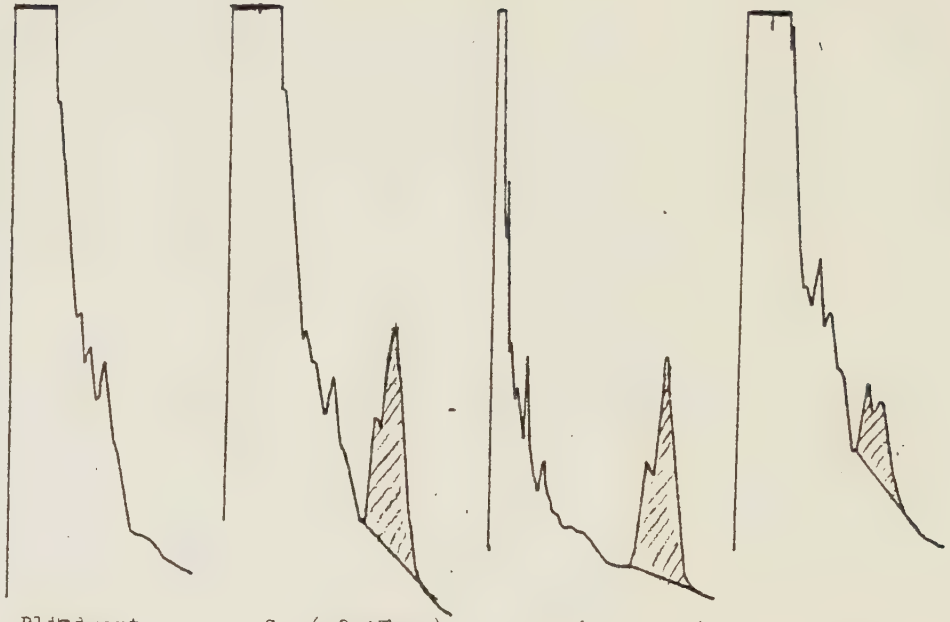
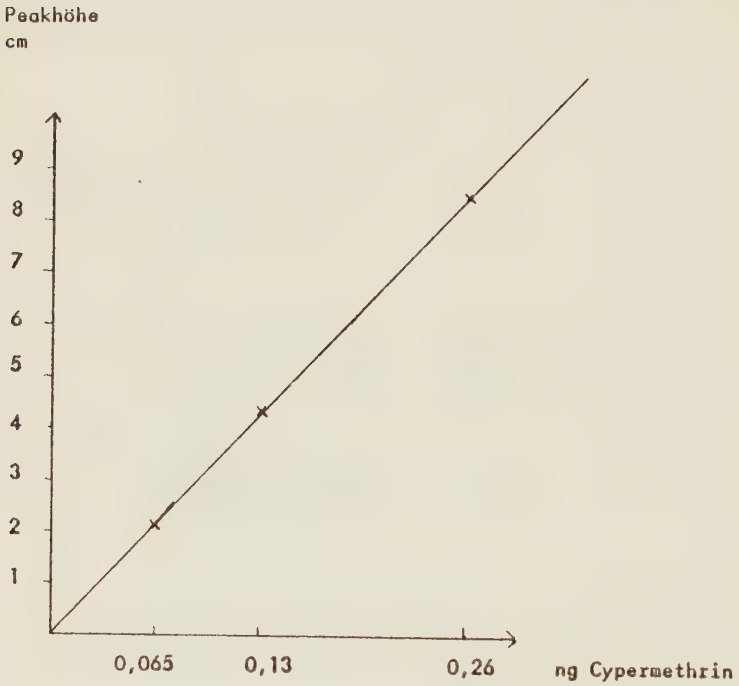


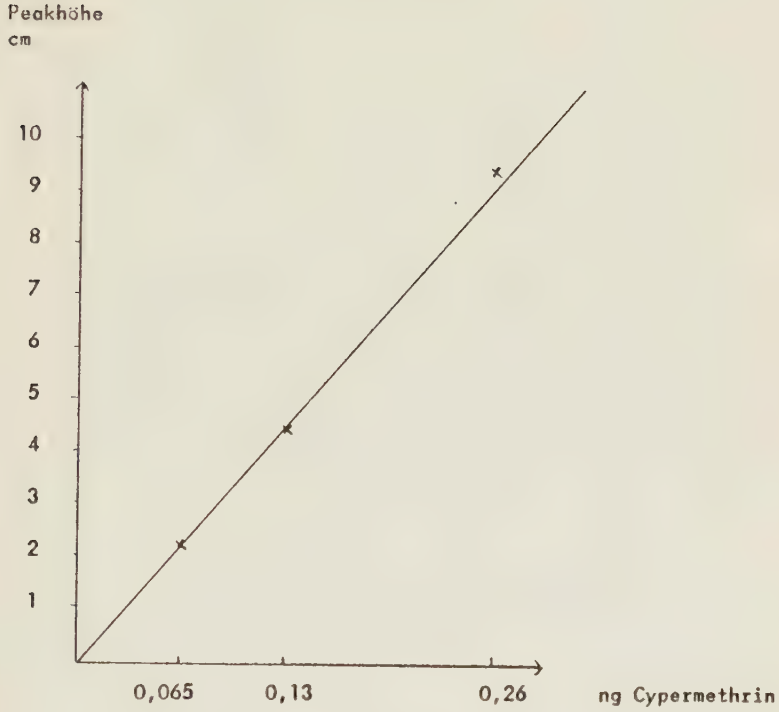
Abb.13: Eichkurve Huhn, Legefett
bei 2 bar



Tab.35: Werte für die Eichkurve

S_y (ng)	Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)
0,065	2,0	2,2	2,1
0,13	4,3	4,3	4,3
0,26	8,4	8,5	8,45

Abb.14: Eichkurve Huhn, Legefett
bei 2,2 bar



Tab.36: Werte für die Eichkurve

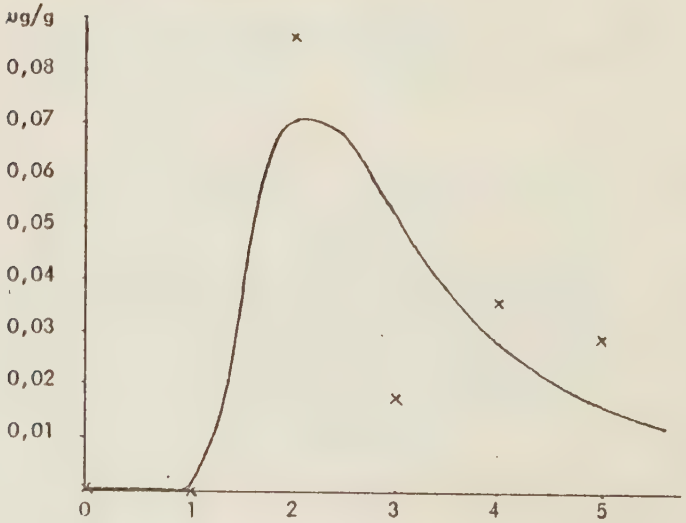
S_y(ng)	Peakhöhe (cm)		∅ Peakhöhe (cm)
0,065	2,2	2,3	2,25
0,13	4,5	4,4	4,5
0,26	9,7	9,3	9,5

Tab.37: Berechnung des Cypermethrin-Rückstandes im Legefett des Huhnes in Abhängigkeit von der Zeit

	∅ Peakhöhe (cm)	µg Cyperm./g Legefett
t_1	0	0
t_2	1,45	0,087
t_3	1,63	0,1
$t_{3-VI.}$	0,35	0,018
t_4	0,775	0,037
t_5	1,837	0,1
$t_{5-X.}$	0,7	0,03

An den fünf aufeinanderfolgenden Tagen wurden bei den jeweiligen Hühnern unterschiedlich hohe Durchschnittswerte gemessen (Tab.34), aus denen sich anhand der Eichkurven der Cypermethringehalt des Legefettes errechnen läßt (Tab. 37). Die Bezeichnung t_{1-5} wurde aus Tab.15 übernommen. Huhn VI und X hatten intensiv gelbes Legefett und wiesen wesentlich höhere Werte als die Vergleichstiere auf. Da sie nicht den Durchschnitt repräsentierten, wurden sie in Abb. 15 nicht mit ins Schaubild aufgenommen.

Abb. 15: Gehalt an Cypermethrin im Legefett des Huhnes in Abhängigkeit von der Zeit



Tab.38: Cypermethringehalt in den Muskelproben der Hühner

		Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)		Ø - B
I.	Probe 1	0	0	0		
	2	0	0	0		
II.	Probe 1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		
III.	Probe 1	0	0	0		
	2	0	0	0		
IV.	Probe 1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0		
V.	Probe 1	0	0	0		
	2	1,2	1,2	1,2		
VI.	Probe 1	0	0	0	0,3	0
	2	0	0	0		
VII.	Probe 1	0	0	0		
	2	1,3	1,2	1,25		
VIII.	Probe 1	1,0	1,0	1,0	0,56	0
	2	0	0			
IX.	Probe 1	1,4	1,4	1,4		
	2	1,0	1,0	1,0		
X.	Probe 1	1,0	1,0	1,0	1,0	0
	2	0,7	0,8	0,75		

Bei Huhn V, VII und VIII muß eine Kontamination durch die Haut bei der Probenentnahme stattgefunden haben (Tab. 38), da die Vergleichsproben keinen Cypermethringehalt aufweisen. Bei Huhn IX und X dagegen muß die Kontamination während der Probenaufbereitung stattgefunden haben, da alle Proben etwa den gleichen Cypermethringehalt wie der Blindwert aufweisen (vergl. Tab.24). Nach Abzug des Blindwertes jedoch war an keinem der fünf Tage Cypermethrin bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cypermethrin/g Probe (Tab.20) nachweisbar (Tab.38).

Tab.39: Cypermethringehalt in den Leberproben der Hühner

		Peakhöhe (cm)		ø Peakhöhe (cm)		ø - B
I.	Probe 1	1,1	0,9	1,0		
	2	0,8	1,0	0,9		
II.	Probe 1	0,5	0,5	0,5	0,76	0
	2	0,8	0,5	0,65		
III.	Probe 1	0,6	0,7	0,65		
	2	0,7	0,5	0,6		
IV.	Probe 1	0,6	0,4	0,5	0,57	0
	2	0,6	0,5	0,55		
V.	Probe 1	0,8	0,6	0,7		
	2	0,6	0,6	0,6		
VI.	Probe 1	0,9	1,0	0,95	0,7	0
	2	0,6	0,5	0,55		
VII.	Probe 1	0,3	0,5	0,4		
	2	0,5	0,4	0,45		
VIII.	Probe 1	0,3	0,3	0,3	0,43	0
	2	0,6	0,5	0,6		
IX.	Probe 1	0,4	0,3	0,35		
	2	0,3	0,3	0,3		
X.	Probe 1	0,3	0,4	0,35	0,52	0
	2	1,1	1,1	1,1		

Nach Abzug des Blindwertes war auch in den Leberproben der Hühner bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cypermethrin/g Probe (Tab.20) an allen fünf Tagen kein Cypermethrin nachweisbar (Tab.39). Die Erhöhungen sowohl des Leberblindwertes als auch der Leberproben waren nicht eindeutig als Cypermethrinpeak zu identifizieren, wurden aber trotzdem aufgelistet. Dadurch verminderte sich die eigentliche Wiederfindungsrate von 87 % auf 75 % (Tab.24).

Tab.40: Cypermethringehalt in den Milzproben der Hühner

	Peakhöhe (cm)		ø Peakhöhe (cm)	ø - B
I.	1,2	1,2	1,2	0,97	0
II.	0,7	0,8	0,75		
III. (0,82 g)	1,1	1,1	1,1	1,125	0
IV. (0,9 g)	1,1	1,2	1,15		
V. (0,76 g)	1,2	1,0	1,1	1,0	0
VI.	0,9	0,9	0,9		
VII. (0,96 g)	1,3	1,1	1,2	0,6	0
VIII. (0,92 g)	0	0	0		
IX.	0	0	0	0	0
X.	0	0	0		

Es konnte maximal 1 g, bei Huhn III, IV, V, VII und VIII sogar weniger als 1 g eingewogen werden, weswegen keine Doppelproben bei der Milz möglich waren. Bei den genannten Hühnern mußten die eigentlichen Cypermethrinwerte, auf 1 g Einwaage bezogen, geringfügig höher sein. Zieht man bei allen Proben den auf 1 g Einwaage bezogenen Blindwert ab, so war bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cypermethrin/g Probe (Tab.20) an den fünf aufeinanderfolgenden Tagen kein Cypermethrin in der Milz nachweisbar (Tab.40). Geht man von der Annahme aus, daß der Cypermethrin-Gehalt mit zunehmender Einwaage linear steigt, so lassen sich durch Umrechnung für die Proben III, IV, V, VII und VIII folgende Cypermethrinwerte pro g Einwaage nach Abzug des Blindwertes ermitteln:
0,0095 µg/g, 0,006 µg/g, 0,0145 µg/g, 0,005 µg/g und 0 µg/g. Nach entsprechender Mittelung der Werte I+II, III+IV, V+VI, VII+VIII und IX+X ergeben sich für den ersten Tag 0 µg Cyp./g Probe, für den zweiten Tag 0,0077 µg Cyp./g Probe, für den dritten Tag 0,0072 µg Cyp./g Probe, für den vierten Tag 0,0025µg Cyp./g Probe und für den fünften Tag 0 µg Cyp./g Probe.

Tab.41: Cypermethringehalt in den Nierenproben der Hühner

		Peakhöhe (cm)		Ø Peakhöhe (cm)		Ø - B
I.		1,5	1,4	1,45		
II.	Probe 1	1,0	1,0	1,0	1,3	0
	2	1,4	1,5	1,45		
III.	Probe 1	1,4	1,6	1,5		
	2	1,5	1,5	1,5	1,5	0,2
IV.	Probe 1	0,5	0,4	0,45		
	2	0,4	0,4	0,4	0,42	0
V.		0,4	0,4	0,4		
VI.	Probe 1	0,4	0,4	0,4	0,4	0
	2	0,4	0,4	0,4		
VII.	Probe 1	0,5	0,5	0,5		
	2	1,0	0,7	0,85	0,58	0
VIII.	Probe 1	0,4	0,4	0,4		
	2	0,6	0,6	0,5	0,5	0
IX.	Probe 1	0,5	0,4	0,45		
	2	0	0	0		
X.	Probe 1	0,6	0,8	0,7	0,28	0
	2	0	0	0		

Bei Huhn I und V konnte mangels Masse nur eine Nierenprobe von 5 g gewonnen werden, so daß wie bei der Milz keine Doppelproben möglich waren.
Wegen der unterschiedlich hohen Blindwerte in den verschiedenen Probendurchgängen (Tab.24) wurden bei III, IV, VII und VIII die Peakhöhen vor Abzug des Blindwertes nicht einheitlich gemittelt (Tab.41).
Probe III wies nach Abzug des Blindwertes noch Cypermethrin auf. Da die Peakhöhe nach Abzug des Blindwertes kaum im Bereich des Meßbaren liegt, wurde auf eine Eichkurve verzichtet.

Die 0,2 cm entsprechen rein rechnerisch ca. 0,007 µg Cyp./g Probe. Alle übrigen Proben wiesen nach Abzug des Blindwertes bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cypermethrin/g Probe (Tab.20) an allen fünf Tagen keine Cypermethrinspuren auf (Tab.41).

Der besseren Übersicht wegen sollen die Ergebnisse aller aufbereiteten Proben noch einmal in Tab.42 zusammengefaßt werden.
Zum Vergleich mit bereits durchgeführten Rückstandsanalysen werden die Cypermethrinwerte von dermal behandelten, schlachtbaren Haustieren, die schon im Literaturteil ausführlich dargelegt wurden (s. 2.4), noch einmal kurz veranschaulicht.

Tab.42: Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse aller aufbereiteten Proben in µg/g bei in Tab.20 aufgelisteten Nachweisgrenzen

Spezies (Anzahl)	g Cyperm./ 100 ml	Zeit nach der Behandlung	Milch	Haut	Fett	Organe Leber, Milz, Niere	Muskel
Rind	0,05	2h, 45 Min.	0				
		15h, 30 Min.	0				
		26h, 45 "	0				
		39h, 30 "	0				
		50h, 45 "	0				
		63h, 30 "	0				
		74h, 45 "	0				
		87h, 30 "	0				
		98h, 45 "	0				
		111h, 30 "	0				
Schaf (2)	0,0075	136h			0	0	0
Schwein(2)	0,02	122h		0,093	0,137	0	0
Huhn (10)	0,05	5h, 15 Min.		2,81	0	0	0
		29h,		1,31	0,087	0	0
		54h,		0,875	0,018	0	0
		77h, 45 Min.		0,375	0,037	0	0
		100h, 40 "		0,68	0,03	0	0

Tab.43: Cypermethrinwerte dermal behandelter, schlachtbarer Haustiere in µg/g (Shell, 1979, 1982)

Spezies	Cypermethrin-Menge	Zeit nach der Behandlung	Milch	Fett	Leber	Niere	Muskel
Rind	0,017 g/100ml	4d		-0,06	< 0,01	< 0,01	< 0,01
		14d		-0,13	< 0,01	- 0,03	-0,01
	0,075 g/100ml	1d	0,0065				
		3d	0,0065				
		7d	0,0075				
		15d	0,002				
	Flectron	2 Wochen	0,002	< 0,001	< 0,005	< 0,005	< 0,005
Schaf	0,005 g/100ml	1d		-0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01
		3d		-0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01
		4d		< 0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01
		14d		-0,07	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	0,05 g/100ml	7d		-0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	21,9mg/kg KGW	6d		0,3	0,12	0,12	0,04

3.2.3 PROZENTUALER ANTEIL DER CYPERMETHRIN-RÜCKSTÄNDE AN DER AUFGEWENDETEN GESAMTMENGE CYPERMETHRIN

Um Rückschlüsse ziehen zu können, in welchem Verhältnis das Cypermethrin zur aufgewendeten Gesamtmenge auf der Haut ab- bzw. in den Gewebeproben zugenommen hat, wurde der prozentuale Anteil der Cypermethrin-Rückstände an der aufgewendeten Gesamtmenge Cypermethrin errechnet.

Tab.44: Aufgewendete Behandlungsmenge an Cypermethrin pro Tier

	Ardap-Lsg.(%)	g Cyp./ 100ml Lsg.	Lösungsmenge pro Tier (ml)	abs.Cyp.menge pro Tier (mg)
Rind	1	0,05	650	325
Schwein	0,4	0,02	300	60
Schaf	0,15	0,0075	Tauchbad	
Huhn	1	0,05	60	30

Tab 45: Prozentualer Anteil der Cypermethrin-Rückstände der Haut und des Fettes von Schwein und Huhn an der aufgewendeten Gesamtmenge

Tierart, Gewebe	Rückstand µg Cyp./g Gewebe	Anteil an der aufgew. Cyp.Menge pro g Gewebe(%)
1) Schwein		
Haut	0,093	$1,5 \times 10^{-4}$
Bauchfett	0,137	$2,2 \times 10^{-4}$
2) Huhn		
Haut t_1	(4)	$(1,3 \times 10^{-2})$
	2,81	$9,3 \times 10^{-3}$
t_2	1,31	$4,3 \times 10^{-3}$
t_3	0,875	$2,9 \times 10^{-3}$
t_4	0,375	$1,2 \times 10^{-3}$
t_5	(0,93)	$(3,1 \times 10^{-3})$
	0,68	$2,2 \times 10^{-3}$

		Rückstand µg Cyp./g Gewebe	Anteil an der aufgew. Cyp.Menge pro g Gewebe (%)
Legefett	t_1	0	0
	t_2	0,087	$2,9 \times 10^{-4}$
	t_3	(0,1)	$(3,3 \times 10^{-4}$
		0,018	6×10^{-5}
	t_4	0,037	$1,2 \times 10^{-4}$
	t_5	(0,1)	$(3,3 \times 10^{-4})$
		0,03	1×10^{-4}

Anmerkung: Die Bezeichnung t_{1-5} wurde in Anlehnung an Tab. 15 verwendet.
Die Zahlen in Klammer beinhalten stark streuende Rückstandswerte, weswegen sie in den Abb. 11 und 15 keine Berücksichtigung fanden.

Tab.45 macht deutlich, daß die Rückstände auf der Haut des Schweines in Abhängigkeit von der aufgewendeten Gesamtmenge etwa eine Zehnerpotenz unter denen des Huhnes liegen.
Die Rückstände im Bauchfett des Schweines bzw. im Legefett des Huhnes betragen dagegen gleichermaßen ungefähr 10^{-4}% der aufgewendeten Gesamtmenge Cypermethrin.

4. DISKUSSION

Die wachsende Kontamination von Luft, Wasser und Boden mit Umweltchemikalien als auch sich häufende Berichte über Rückstände in Lebensmitteln tierischer und pflanzlicher Herkunft lassen immer mehr Menschen mit Besorgnis in die Zukunft schauen. Es ist deswegen nicht verwunderlich, daß auch die Industrie nach Pflanzenschutz- bzw. Tierarzneimitteln forscht, die die Umwelt weniger belasten und für den Menschen eine geringe Toxizität besitzen.

Cypermethrin, ein relativ neues synthetisches Pyrethroid (ELLIOT, 1975), gehört zu den Pflanzenschutzmitteln, die im Sonnenlicht und an der Luft eine mehrwöchige Residualwirkung besitzen (HEIMBUCHER, 1982), im Boden und in Gewässern jedoch rasch abgebaut werden (ICI, 1983). Dadurch stellt Cypermethrin, erstens durch die geringe Präsenz und zweitens durch den raschen Abbau, eine geringe Umweltbelastung dar. Pyrethrine werden im Verdauungstrakt zu ungiftigen Verbindungen umgesetzt (RÖMPP, 1962). Die LD_{50} für Ratten beträgt bei Cypermethrin 250 ug/kg KGW, oral akut (SHELL, 1979). Auch die chronische orale Toxizität ist gering. Der 'no effekt level' bei Ratten liegt bei 100 ug Cypermethrin/kg KGW (KAEMMERER, 1982), so daß eine Eignung als Tierarzneimittel nahe liegt.
Die Wirksamkeit von Cypermethrin, Handelsname Ardap, auf insektenbefallene Tiere ist durch zahlreiche Untersuchungen erwiesen. So berichten KÜNAST (1979) über die Abwehr von Stubenfliegen, LAMINA (1980) über die Behandlung von milbenbefallenen Kälbern, DINGELDEIN (1980) über die Bekämpfung der Schweineräude und eine Reihe anderer Autoren über die Wirksamkeit von Cypermethrin bei anderen Parasitosen.
Rückstandsuntersuchungen von mit Cypermethrin behandelten Tieren sind allerdings nur in beschränktem Maße durchgeführt worden. Fische, Ratten (Tab.8), Schafe und Rinder (Tab 5,6,7,9,10,11 und 43) wurden von der SHELL CHEMIE GmbH auf Rückstände untersucht. Das Ziel dieser Arbeit war es, weitere ergänzende und untermauernde Rückstandsanalysen von Cypermethrin zu liefern.
Die eigentliche Rückstandsanalyse erfolgte nach entsprechender Vorreinigung der Proben mittels Gaschromatographie. Das Cypermethrin erschien im Chromatogramm nach charakteristischer Retentionszeit und als charakteristische Peakform, nämlich als zwei sich überlappende Peaks, die das Ergebnis einer unvollständigen Trennung der Cypermethrin-Isomeren im Chromatographen sind (Abb. 5,7,9 und 12).

Peaks mit charakteristischer Retentionszeit aber nicht charakteristischer Form wurden nicht ausgewertet. Angesichts einer Nachweisgrenze von 0,0025 µg Cyp./g Probe bei Milch und 0,0125 µg Cyp./g Probe bei tierischem Gewebe, bzw. 0,125 µg Cyp./g Probe bei der Hühnerhaut machen sich Verunreinigungen in Form eines Blindwertes zwangsläufig sehr leicht bemerkbar. Da es sich um Spuren von 0,005 ng, 0,0065 ng, bzw. 0,065 ng Cypermethrin handelt, konnten selbst bei sehr sauberem Arbeiten Kontaminationen nicht immer vermieden werden (Tab.20).

In der Milch der Kuh, welche mit 1 %iger Ardap-Lösung, entsprechend 0,05 g Cyp./100 ml Lsg., behandelt wurde (Tab.14), konnten in den ersten fünf Tagen bei einer Nachweisgrenze von 0,0025 µg Cyp./g Probe keine Cypermethrinspuren nachgewiesen werden (Tab.26,42). Rückstandsanalysen der SHELL CHEMIE (1979) besagen, daß in der Milch von Kühen, die mit 0,075 g Cyp./100 ml Lsg. besprüht worden waren, am 1. und 3. Tag durchschnittlich 0,0065 µg Cyp./g Probe und 7. Tag durchschnittlich 0,0075 ug Cyp./g Probe nachgewiesen wurden (Tab.7,43). Beachtet man die unterschiedliche Behandlungsmenge, so stimmen die Ergebnisse in etwa überein.

Die Schafe wurden in eine 0,15 %ige Ardap-Lösung, entsprechend 0,0075 g Cyp./100 ml Lsg., getaucht (Tab.14). Die Rückstandsanalysen zeigen bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cyp./g Probe kein Cypermethrin an (Tab.27, 42). Während Muskel, Flomen und Niere eindeutige Ergebnisse aufwiesen - Blindwert und Proben keine Peaks, akzeptable Wiederfindungsrate - sind die Werte von Leber und Milz weniger zufriedenstellend. Wie der Blindwert beider Organe zeigt, muß eine Kontamination stattgefunden haben, die sich auch in den Proben wiederfindet. Sowohl Leber-, als auch Milzproben mußten wegen Austrocknung im Kühlschrank mit Hexan neu aufgefüllt werden. Die Kontamination zeigte sich in einer stark abfallenden Basislinie, die der Grund für die niedrige Wiederfindungsrate sein dürfte, denn die übrigen Ergebnisse weisen alle Wiederfindungsraten zwischen 80 % und 120 % auf, so daß ein Verlust durch die Probenaufbereitung ausgeschlossen werden kann.

Von der SHELL CHEMIE (1979) durchgeführte Rückstandsanalysen besagen, daß ein mit 0,005 g Cyp./100 ml Lsg. behandeltes Schaf (Tauchbad) am vierten Tag nach der Behandlung noch folgende Werte an Cypermethrin aufwies (Tab.5,43) : im Fett < 0,02 µg Cyp./g Probe, Muskel, Leber und Niere < 0,01 µg Cyp./g Probe. Das Schaf wurde zwar mit weniger Cypermethrin/100 ml Lsg. behandelt, dafür stammen die Werte vom vierten und nicht vom fünften Tag nach der Behandlung. Die Werte der SHELL CHEMIE stehen somit nicht im Gegensatz zu den vorliegenden Befunden, wenn man bedenkt, daß in deren Versuch Fett untersucht wurde, im vorliegenden Versuch jedoch Nierenfettgewebe. Die drei Monate alten, in vorliegender Arbeit überprüften Tiere hatten infolge ihres Alters noch kein Unterhautfettgewebe angesetzt, weswegen auf das Flomen ausgewichen werden mußte. Mit Sicherheit ist Unterhautfettgewebe anders zu beurteilen als Nierenfettgewebe, da das Unterhautfett nach einer dermalen Resorption des Cypermethrin am nächsten für die Speicherung der lipophilen Substanz liegt

Weitere Versuche wurden von der SHELL CHEMIE mit Schafen durchgeführt. Die Tiere wurden mit 21,9 mg Cyp./kg KGW dermal (Tab.11,43), bzw. mit 3,9 mg Cyp./kg KGW oral (Tab. 11) behandelt. Bei der dermalen Behandlung blieben 30 % des Wirkstoffes am Applikationsort liegen, nur 2 % wurden über den Urin und 0,5 % über den Kot in 6 Tagen ausgeschieden. Am 6. Tag nach der dermalen Behandlung wies das Nierenfett noch 0,3 µg Cyp./g Probe auf. In Leber und Niere wurden 0,12 µg Cyp./g Probe und im Muskel noch 0,04 µg Cyp./g Probe aufgefunden. Diese Rückstandsanalysen geben zu der Vermutung Anlaß, daß sich das Cypermethrin nach dermaler Behandlung als lipophile Substanz vor allem im Wollfett anreichert und sich dann andere lipophile Gewebe 'sucht'. Außerdem reichert es sich in nicht unerheblichem Maße in der Leber als Metabolisierungsorgan, bzw. in der Niere als Eliminationsorgan an. Im Vergleich dazu findet es sich in geringen Mengen in der Muskulatur.

Die Rückstandsanalysen nach dermaler Behandlung zeigen in deutlichem Maße das Rückstandsverhalten von Cypermethrin. Die Cypermethrin-Menge bei der Behandlung des o.a. Versuches steht jedoch in keinem Verhältnis zu den Empfehlungen des Herstellers, wonach eine 0,15 %ige

Ardap-Lösung für eine effektive Wirksamkeit ausreichend ist (Tab.14). Dies entspricht 3,75 g Cyp. in 50 l Tauchbad. Geht man davon aus, daß etwa ein Liter für ein 30 kg schweres Schaf verbraucht wird, so entspricht das einer dermalen Behandlungsmenge von 2,5 mg Cyp./kg KGW, also etwa einem Zehntel der o.a. Cypermethrinmenge. Die Organ- und Fettrückstände wären dann in diesem Fall auch entsprechend niedriger.
Die orale Behandlung mit 3,9 mg Cyp./kg Schaf (Tab.11) zeigt wesentliche Unterschiede im Eliminationsverhalten: Innerhalb von zwei Tagen werden 41 % (!) des oral verabreichten Cypermethrins über den Urin und 20,5 % über den Kot ausgeschieden (SHELL, 1979). Eine intestinale Resorption muß stattgefunden haben, da sich am 2. Tag nach der oralen Behandlung im Nierenfett als Speicherorgan 0,41 µg Cyp./g Probe wiederfinden. Die am 2. Tag vorgenommene Rückstandsanalyse macht den höheren Fettgewebewert im Vergleich zur dermalen Behandlung erklärbar, wo erst am 6. Tag die Proben untersucht wurden. Außerdem bleibt ein großer Teil des Cypermethrin nach dermaler Behandlung im Wollfett liegen und wird somit nicht der dermalen Resorption zugänglich gemacht. Die Rückstandswerte von Leber und Niere nach oraler Behandlung sind etwa dreimal so hoch wie bei der dermalen Behandlung, was durch die hohe Eliminationsrate über den Urin und durch die schon am 2. Tag vorgenommene Analyse erklärbar wird.
Insgesamt können die in Tab.11 dargelegten Ergebnisse so gedeutet werden, daß bei dermaler Behandlung ein grosser Teil am Applikationsort, v.a. wenn Wollfett, Talg o. ä. vorhanden ist, liegenbleibt und es dadurch zu geringeren Geweberückständen kommt als bei oraler Behandlung, die mit erheblicher Resorption, Metabolisierung, Fettspeicherung und Elimination über den Urin verbunden ist. Diese Vermutung wird auch durch Rückstandsuntersuchungen bei Rindern unterstützt, die mit Flectron behandelt wurden (SHELL, 1982): In allen Haarproben wurden Rückstände in Höhe von 0,05 - 160 mg/kg gefunden. Die Analyse verlief jedoch negativ bei Gewebe, das subcutanes Fett enthielt. Weniger als 0,005 µg Cyp./g wurde in Leber, Niere und Muskulatur und weniger als 0,001 µg Cyp./g im Nieren- und Omentalfett innerhalb der ersten 15 Tage gefunden (Tab.43).

Versuche mit Mastrindern, die in 0,017 g Cyp./100 ml Lsg. getaucht worden waren (SHELL, 1979), ergaben nach 4 Tagen Rückstandsanalysen von weniger als 0,01 µg Cyp./g Probe in Muskel, Leber und Niere, sowie zwischen 0,03 und 0,06 µg Cyp./g Fett. Nach 14 Tagen wurden vor allem im Fett höhere Werte gemessen (Tab.6,43). Dies kann auf eine zunehmende Einspeicherung im Fettgewebe zurückgeführt werden. Die Behandlungsmenge beträgt etwa ein Drittel der in der vorliegenden Arbeit aufgewendeten Menge. Bei oraler Fütterung von Kühen mit 2 mg Cyp./Tag über 20 Tage lang (Tab.9, SHELL, 1982) wurden in der Milch 0,5 % und davon im Milchfett 60 - 70 % wiedergefunden. Nach 2 Tagen erfolgte die Elimination über den Urin (53,6 %) bzw. über den Kot (42 %). Nach 20 Tagen wurden noch Fettrückstände von 0,11 µg Cyp./g Probe gefunden (Tab.10). Auch diese Analysen zeigen das ausgeprägte Eliminationsverhalten über den Urin und die Fettspeicherung von Cypermethrin nach oraler Behandlung.
Die negativ verlaufenen Rückstandsanalysen der Milch- und Schafproben in der vorliegenden Arbeit bei einer Nachweisgrenze von 0,0025 bzw. 0,0125 µg Cyp./g Probe stehen somit im Einklang mit den oben angeführten Überlegungen. Da die Untersuchungen innerhalb der ersten fünf Tage, bzw. am fünften Tag durchgeführt wurden, ist nicht auszuschliessen, daß es infolge der langen Verweildauer von Cypermethrin auf der Haut (s. 2.3.3.2.2) zu einer zunehmenden Feteinspeicherung kommt (vergl. Tab.6).

Die Schweine wurden in der vorliegenden Arbeit mit einer 0,4 %igen Ardap-Lösung, entsprechend 0,02 g Cyp./100 ml Lsg. (Tab.14), besprüht. Im Bauchfett wurden 0,137 µg Cyp./g und auf der Haut 0,093 µg Cyp./g als Durchschnittswert für beide Tiere am fünften Tag nach der Behandlung ermittelt (Tab. 28,29,30,42). Ins Auge fällt der höhere Wert im Fett. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß sich die Entnahme des Fettes sehr schwierig gestaltete, da die Tiere infolge ihres Alters sehr wenig Fett angesetzt hatten. Aus diesem Grund mußte entlang der Schnittstelle, die ja durch den Hautschnitt wahrscheinlich kontaminiert war, das Fett ausgeräumt werden. Es ist nicht auszuschließen, daß zumindest ein Teil des nachgewiesenen Cypermethrins von der Schnittstelle stammt. Andererseits wurde die Haut vor ihrer Entnahme trocken rasiert, so daß eine Verminderung durch die-

sen Vorgang zumindest denkbar ist. Da aber auch in der Praxis enthaart bzw. gebrUht wird, entspricht das Ergebnis im Grunde Praxisbedingungen. Eine Abnahme des Cypermethringehaltes durch mechanische EinflUsse wie Aneinanderreiben, Suhlen etc. ist ebenfalls denkbar.

In der Hinterbackenmuskulatur, der Milz, der Leber und der Niere der Schweine wurden bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cyp./g Probe keine RUckstände nachgewiesen (Tab. 28, 42).

Die Behandlung der HUhner erfolgte in der vorliegenden Arbeit mit einer 1 %igen Ardap-Lösung, entsprechend 0,05 g Cyp./100 ml Lsg. (Tab.14).
In der HUhnerhaut wurden an den fUnf aufeinanderfolgenden Tagen absinkende Werte von maximal 2,81 µg Cyp./g Probe und minimal 0,37 µg Cyp./g Probe nachgewiesen (Abb. 11, Tab.31,33,42). Jeweils ein Wert von Huhn I und IX streute stark, weswegen er nicht mit in die Berechnung miteinging. Es ist möglich, daß diese beiden Proben zufällig mit Federmaterial in BerUhrung gekommen sind und dadurch ein Uberdurchschnittlicher Cypermethringehalt nachgewiesen wurde. Es muß darauf hingewiesen werden, daß anhand der zur VerfUgung stehenden Werte das Schaubild nur eine Tendenz aufzeigen kann. Dasselbe gilt fUr das im folgenden abgehandelte Legefett.
Der Cypermethringehalt im Legefett der HUhner stieg am 2. Tag auf 0,087 µg Cyp./g Probe rapide an und fiel bis zum 5. Tag auf 0,03 µg Cyp./g Probe wieder ab (Abb. 15, Tab.34,37,42). Bei Huhn VI und X wurden wesentlich höhere Cypermethrinwerte als bei den VergleichshUhnern V und IX gemessen. Sowohl Huhn VI als auch X hatten im Vergleich zu allen anderen HUhnern extrem gelbes Legefett. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß intensiv gelbes Legefett im besonderen Maße fähig ist, Cypermethrin zu speichern. Diese Werte wurden ebenfalls nicht berUcksichtigt, da sie nicht den Durchschnitt repräsentierten.
Vergleicht man die Ergebnisse von Haut und Fett, so fällt auf, daß die Schaubilder 11 und 15 gegenläufig sind, d.h., während der Cypermethringehalt auf der Haut absinkt - durch Resorption oder mechanische Einwirkung - steigt der Gehalt an Cypermethrin im Fett an, d.h. es muß eine Speicherung im Fett stattgefunden haben. Die Werte im Fett liegen etwa eine Zehnerpotenz niedriger als auf der Haut. Dies bedeutet, daß ca. 10 % des Cypermethringehalts auf der Haut im Fett gespeichert wird.

In der Brustmuskulatur und der Leber des Huhnes konnte bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cyp./g Probe kein Cypermethrin nachgewiesen werden (Tab.38,39,42). Wie schon erwähnt, waren die Erhöhungen des Leberblindwertes und der Leberproben nicht eindeutig als Cypermethrinpeak zu identifizieren, wurden aber trotzdem aufgelistet, wodurch sich die eigentliche Wiederfindungsrate von 87 % auf 75 % verringerte
Bei den Milzproben III, IV, V, VII und VIII der Hühner war weniger als 1 g Einwaage möglich. Geht man von der Annahme aus, daß der Cypermethringehalt mit zunehmender Einwaage linear steigt, so ergeben sich nach Umrechnung für alle fünf Tage Cypermethrinwerte, die unterhalb der Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cyp./g Probe liegen (Tab.40, 42).
Bei der Niere des Huhnes fällt die Probe III außer der Reihe, da sie als einzige nach Abzug des Blindwertes noch Cypermethrin enthalten soll. Da der Rest einer verschwindend geringen Menge von ca. 0,007 µg Cyp./g Probe entspricht und die Doppelprobe kein Cypermethrin aufweist, ist höchstwahrscheinlich eine Kontamination während der Probenaufbereitung dafür verantwortlich zu machen. Demnach ist bei einer Nachweisgrenze von 0,0125 µg Cyp./g Probe auch in der Niere kein Cypermethrin nachweisbar (Tab.41,42).

Wie erwartet konnte weder in der Kuhmilch noch in den Muskel- und Organproben von Schaf, Schwein und Huhn Cypermethrin nachgewiesen werden. Sowohl auf der Haut als auch im Fett von Schwein und Huhn kam es jedoch zu Rückständen (Tab.42).
Vergleicht man die Ergebnisse vom Schwein 122 Stunden und die vom Huhn 100 Stunden und 40 Minuten nach der Behandlung (vergl. auch Tab.15), so ergibt sich, daß pro g Gewebe beim Schwein im Bauchfett noch $2,2 \times 10^{-4}$% des in der Behandlung aufgewendeten Cypermethrins, beim Huhn im Legefett noch 1×10^{-4}% nachgewiesen werden können (Tab.45). Die Werte geben zu der Vermutung Anlaß, daß sowohl Schwein als auch Huhn Cypermethrin in etwa gleicher Größenordnung im Fett speichern. Der höhere Wert beim Schwein, trotz späterer Probenentnahme, läßt sich evtl. auf die schon erwähnte Kontamination bei der Probenentnahme zurückführen.
Die Rückstände pro g Gewebe auf der Haut des Schweines betragen nur $1,5 \times 10^{-4}$% des in der Behandlung aufge-

wendeten Cypermethrins, die auf der Haut des Huhnes dagegen 2,2 x 10^{-3}%. Der um eine Zehnerpotenz niedrigere Wert beim Schwein kann folgende Gründe haben: Die Schweine wurden ca. 13 Stunden später als die letzten Hühner getötet, so daß eine Abnahme des Cypermethrins auf der Haut in diesem Zeitraum erfolgen konnte. Leider war die Probenentnahme der Milch und die Tötung von Schafen, Schweinen und Hühner zu synchronen Zeitpunkten aus rein technischen Gründen nicht möglich. Andererseits läßt sich eine stärkere Abnahme des Cypermethrins auf der Schweinehaut, wie schon erwähnt, auf das Rasieren vor der Probenentnahme und mechanische Einflüsse, wie Aneinanderreiben und Suhlen, ein ausgeprägtes Verhalten beim Schwein, zurückführen. Letztendlich besteht die Möglichkeit, daß Schweine das Cypermethrin doch in stärkerem Maße im Fett speichern. Am naheliegensten dürfte jedoch die Erklärung sein, daß der höhere Cypermethringehalt im Fett der Schweine darauf zurückzuführen ist, daß der Cypermethringehalt der Haut nach der Fettspeicherung durch äußere Einflüsse abgenommen haben muß.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß Rind, Schaf, Schwein und Huhn in der in Tab.14 angegebenen Menge dermal behandelt werden können, ohne daß nennenswerte Cypermethrin-Rückstände in Milch (0,0025 µg/g), Muskulatur oder Organen (0,0125 µg/g) innerhalb der ersten fünf Tage gefunden werden können.
Die Haut bzw. die Wolle wird bei allen Tieren entsprechend ihrem Fettgehalt und der mechanischen Beanspruchung mehr oder weniger stark kontaminiert sein. Da nur die Haut von Schwein und Huhn verzehrt wird, ist der Cypermethrin-Gehalt auch nur hier von Relevanz. Im übrigen wäre zu prüfen, ob durch Hitzeeinwirkung wie Braten oder Kochen eine Abnahme des Cypermethrins auf der Haut oder im Fett zu erreichen ist.
Da Cypermethrin eine lipophile Substanz ist und eine vier bis acht Wochen dauernde Residualwirkung auf der Haut besitzt, wird es, je nach Fettgehalt der Haut bzw. ihrer Haare, der Cypermethrin zurückhält, zunehmend im Fett gespeichert. Rückstandsuntersuchungen der SHELL CHEMIE (1979) beim Rind zeigen (vergl. Tab.6 und 42), daß die Speicherung im Fett nach dermaler Behandlung am 14 Tag höher ist, als am 4. Tag. Es handelt sich dabei jedoch um sehr geringe Cypermethrinspuren.

In der vorliegenden Arbeit wurde zwar weder im Milchfett noch im Flomen der Schafe Cypermethrin gefunden, jedoch konnte im Fettgewebe von Schwein und Huhn am fünften Tag 0,137 µg Cyp./g Probe, bzw. 0,03 µg Cyp./g Probe entsprechend der Behandlungsmenge nachgewiesen werden.

Der von der FAO/WHO auf internationaler Ebene für Cypermethrin vorgeschlagene ADI-Wert sieht 0,05 mg/kg KGW/Tag vor (FAO/WHO, 1981). Das bedeutet für einen 60 kg schweren Menschen, daß 3 mg Cypermethrin pro Tag akzeptabel sind. Um diesen Wert zu erreichen, müßte ein Mensch dieses Gewichts von dem obengenannten Schweine- bzw. Hühnerfett pro Tag ca. 22 kg bzw. 100 kg verzehren. Dies macht deutlich, wie gering die gefundenen Werte einzuschätzen sind.
Außerdem ist, wie schon bei der Haut erwähnt, eine Verminderung des Cypermethringehaltes durch Hitzeeinwirkung zu erwarten.
Cypermethrin besitzt eine geringe akute, orale Toxizität. Bei der Ratte beträgt die LD_{50} 250 - 400 mg/kg KGW je nach Trägersubstanz (Tab.4). Die chronische orale Toxizität, die ein noch wichtigeres Kriterium für die Einschätzung einer Substanz ist, wird als sehr gering eingestuft. So liegt der 'no effect level'der Ratte bei 100 mg/kg KGW, der von Beagles sogar bei 500 mg/kg KGW im 3-Monate-Versuch (s. 2.3.4 3.1).
Im Falle der Zulassung von Ardap als Tierarzneimittel stellt sich die Frage, ob eine Höchstmenge für Cypermethrin festgelegt,oder ob an der Wartezeit von fünf Tagen festgehalten wird. Die Höchstmenge könnte im Bereich von 0,01 mg/kg (Milch), bzw. 0,2 mg/kg (Fleisch) liegen, so wie von der FAO/WHO auf internationaler Ebene vorgeschlagen wurde (FAO/WHO, 1981).
Wie auch der Gesetzgeber entscheiden wird, fest steht, daß Cypermethrin eine wirksame Substanz gegen Parasitosen ist, die sehr geringe Rückstände im Tierkörper hinterläßt und in diesen Spuren als ungefährlich für den menschlichen Genuß angesehen werden muß.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Ein Rind, zwei Schafe, zwei Schweine bzw. zehn Hühner wurden mit einer 1 %igen, 0,15 %igen, 0,4 %igen, bzw. einer 1 %igen Ardap-Lösung, einem 5 % Cypermethrin enthaltenem Emulsionskonzentrat, besprüht.

Die Milchentnahme beim Rind erfolgte fünf Tage lang Die Schafe und die Schweine wurden nach fünf Tagen, die Hühner an fünf aufeinanderfolgenden Tagen getötet und Proben von Fettgewebe, Muskulatur, Leber, Milz und Niere, bei Schwein und Huhn auch von der Haut entnommen.

Die Untersuchung aller Proben auf Cypermethrin-Rückstände erfolgte nach entsprechender Vorreinigung mittels Gaschromatographie. Dabei wurde mit einer Nachweisgrenze von 0,0025 µg Cypermethrin/g Probe bei Milch und 0,0125 µg Cypermethrin/g Probe bei tierischem Gewebe, bzw. 0,125 µg Cypermethrin/g Probe bei der Hühnerhaut gearbeitet.

In den Milchproben und den Organ- und Gewebeproben der Schafe konnten keine Cypermethrin-Rückstände nachgewiesen werden. Auf der Haut der Schweine wurden 0,093, in ihrem Bauchfett 0,137 µg Cypermethrin/g Probe im Durchschnitt festgestellt. Die Hühnerhaut wies im Durchschnitt an den fünf aufeinanderfolgenden Tagen abfallende Werte von maximal 2,81 und minimal 0,37 ug Cypermethrin/g Probe auf. Im Legefett der Hühner stieg der Wert von 0 am ersten Tag auf 0,08 am zweiten Tag und fiel bis zum fünften Tag auf 0,03 µg Cypermethrin/g Probe wieder ab. In den übrigen Proben von Schwein und Huhn wurde bei o.a. Nachweisgrenze kein Cypermethrin ermittelt.

Die Rückstandsanalyse von Schwein und Huhn zeigte, daß Cypermethrin von der Haut resorbiert und im Fett gespeichert wird.

Als Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen und der im Literaturteil dargelegten Eigenschaften kann Cypermethrin als eine wirksame Substanz gegen Parasitosen charakterisiert werden, die sehr geringe Rückstände im Tierkörper hinterläßt und in diesen Spuren als ungefährlich für den menschlichen Genuß angesehen werden muß.

6. GASCHROMATOGRAPHICAL INVESTIGATIONS ON RESIDUES OF THE PYRETHROID CYPERMETHRIN OF SLAUGHTERABLE DOMESTIC ANIMALS AFTER EXTERNAL TREATMENT

SUMMARY

A cow, two sheep, two pigs respectively ten hens were sprayed with a 1 %, a 0,15 %, a 0,4 % respectively a 1% Ardap solution. This solution is an emulsion concentrate containing 5 % of Cypermethrin.

The cow was milked on five days in series. The sheep and the pigs were killed after five days, the hens were killed on five consecutive days. Samples of the fatty tissue, the muscular system, the liver, the spleen and the kidneys were taken. Samples were also taken of the skin both of the pigs and the hens.

After an appropriate pre-purification, the samples were lab-examined for Cypermethrin residues using a gas chromatograph. The limit of detection was 0,0025 µg Cypermethrin/g sample in the tested milk, 0,0125 µg Cypermethrin/g sample in the tested animal tissue and 0,125 µg Cypermethrin/g sample in the tested skin of the hens.

No residues of Cypermethrin could be found in the samples of the milk and the sheep. The skin of the pigs showed an average concentration of 0,093, their abdomen fat an average concentration of 0,137 µg Cypermethrin/g sample. On the five consecutive days the skin of the hens on the average showed decreasing concentrations of a maximum of 2,81 and a minimum of 0,37 µg Cypermethrin/g sample. In the fat surrounding the cloacal of the hens the concentration of Cypermethrin increased from 0 on the first day up to 0,08 on the second day and decreased to 0,03 µg Cypermethrin/g sample by the fifth day. In the other samples of the pigs and the hens no Cypermethrin could be found in case of the above mentioned limit of detection.

The analysis of the residues in the samples both of the pigs and the hens showed that Cypermethrin is absorbed by the skin and is retained in the body fat.

The described properties of Cypermethrin in literature characterise Cypermethrin as an effective substance against parasitosis. The present studies have shown, that the remaining residues of Cypermethrin in the body of animals are insignificant. Hereout one can conclude that this insecticide is harmless to human organism.

7. LITERATURVERZEICHNIS

ALI, S. L., 1973:
Die chromatographischen Verfahren
Pharmazeut. Ztg. 118, 1139 - 1146

BECKMANN, H. a. P. T. ALLEN, 1966:
Analysis of Pyrethrins
Advances Chemistr. S. 53, 51 -64

BENTZ, H., 1969:
Nutztiervergiftung
Fischer Verlag, Jena, 106

BEVENUE, A. a. Y. KAWANO, 1970:
Analytical Studies of Pyrethrin Formulations
By Gas Chromatography
J. Chromatog. 50, 49 -58

BEVENUE, A. a. J. N. OZATA, 1970:
A note on the use of Florisil adsorbent for
the separation of polychlorbiphenyls from
chlorinated pesticides
J. Chromatog. 50, 142 - 144

BRAUN, W. u. A. DÖNHARD, 1975:
Vergiftungsregister
Thieme Verlag, Stuttgart

BÜCHEL, K. H., 1977:
Pflanzenschutz- und Schädlungsbekämpfungsmittel
Thieme Verlag, Stuttgart, 5 - 9

CHAMBERS, J., 1980:
An introduction to the metabolism of pyrethroids
Residue Rev., NY, 73, 101 - 124

CHAPMAN, R.A. a C. R. HARRIS, 1978:
Extraction and Liquid-Solid Chromatography
Cleanup Procedures For The Direct Analysis Of
Four Pyrethroid Insecticides In Crops By Gas-
Liquid Chromatography
J. Chromatog. 166, 513 -518

DE FAUBERT MAUNDER, M.J.,EGAN, H. a. J.ROBURN,1964:
Some Practical Aspects of The Determination of Chlorinated Pesticides by Electron-capture Gas Chromatography
Analyst V. 89, 157 - 167

DINGELDEIN, W., 1980:
Bekämpfung von Hautparasiten bei landwirtschaftlichen Nutztieren mit einem neuartigen Insektizid
Der Tierzüchter 32, 47 -48

ECKER, E., 1971:
Moderne Flüssigchromatographie
Chemiker-Ztg. 95, 511 - 519

ELLIOT, M., 1975:
Pestic. Sci. 6, 537
zit. n. Worthing

ELLIOT, M., 1977:
Synthetic Pyrethroids
Amer. Chem. Soc. Symposium, D.C., 1 -28

ELLIOT, M., JANES, M. F. a. C. POTTER, 1978:
The future of pyrethroids in insect control
Am. Rev. Entomol. 23, 443 - 469

FAO/WHO, 1981:
Joint Meeting on Pesticide Residues in Food
pers. Mitteilung v. Dr. Arent, Shell Chemie an Autorin

FASSBENDER, C. P., 1975:
Probleme in der Bestimmung und Interpretation von Pesticidrückständen in und auf vom Tier stammenden Lebensmitteln bei der Anwendung unterschiedlicher analytischer Methoden
DVG e.V., Tagungsbericht anläßlich der 17. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene vom 16. - 19.09.1975 in Garmisch-Partenkirchen, 1 - 14

FRIMMER, M., 1977:
Pharmakologie und Toxikologie, 2. Auflage
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart,
New York, 103 - 104

GARNER'S, 1968
Veterinärmedizinische Toxikologie
Fischer Verlag, Jena, 241

GEMMER, H., 1981
Gaschromatographische Untersuchungen auf Organochlorverbindungen am Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt Frankfurt/Main im Zeitraum 1978 - 1980
(unveröffentlicht)

HEIMBUCHER, J., 1976:
Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung von Stomoxys calcitrans und Musca domestica in einem Milchviehbetrieb anläßlich der 8. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Parasitologie e.V.
Beitrag 31, zit.n. KÜnast

HEIMBUCHER, J., 1982:
Insektizide gegen Ektoparasiten und Lästlinge bei Haustieren - eine kritische Bestandsaufnahme in Österreich erhältlicher Präparate
Wien, tierärztl. Mschr. 69, 208 - 216

HILL, K. R., 1979:
Recommanded Methods For The Determination Of Residues Of Pyrethrins And Piperonyl Butoxide
Pure & App. Chem. 51, 1615 - 1623

IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES; Ltd., 1983:
Cymbush
pers. Mitteilung v. Dr. Hemmen, ICI, an Autorin

INDUSTRIEVERBAND PFLANZENSCHUTZ e.V., 1982:
Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln, Physikalisch-chemische und toxikologische Daten
Pressehaus Bintz. Verlag, Offenbach, 129 - 130

JAMES, A. T. u. A. J. P. MARTIN, 1952:
Biochem. J. 50, 679
zit. n. Ali

JOHNSON, E. L. a. R. STEVENSON, 1978:
Basic Liquid Chromatography
Copyright 1978 by Varian Associates,
Inc., 611 Hansen Way,
Palo Alto, California 94303

KAEMMERER, K., 1982:
Gutachtliche Stellungnahme zur pharmakologisch-toxikologischen Prüfung von Flectron an die Shell Chemie (unveröffentlicht)

KAISER, R., 1973:
Chromatographie in der Gasphase, Band I - IV
Bibliographisches Institut, Mannheim, Wien, Zürich

KAWANO, Y., YANAGIHARA, K. H. a. A. BEVENUE, 1974:
Analytical Studies of Pyrethrin Formulations By Gas Chromatography
J. Chromatog. 90, 119 - 128

KEIDING, J., 1976:
Development of resistance to Pyrethroids in field populations of Danish houseflies
Pestic. Sci. 7, 283
zit. n. Künast, 1979

KÜNAST, C., SCHAH-ZEIDI, M. u. M. MESSNER, 1979:
Die Abwehr von Stubenfliegen (Musca domestica L.) durch das Pyrethroid Cypermethrin
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 322 - 324

KÜNAST, C., SCHÄFER, B., SCHMELZ, H. u.M.SCHAH-ZEIDI,1983:
Untersuchungen über die Kontrolle von Dipteren an Weidevieh in Süddeutschland durch cypermethrinhaltige Ohrmarken
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 96, 131 - 134

LEIPNITZ, E. u. H. G. STRUPPE, 1970:
Handbuch der Gaschromatographie
Verlag Chemie, Weinheim

MYAMOTO, J., 1976:
Degradation, Metabolism and Toxicity of Synthetic Pyrethroids
Environmental Health Perspectives 14, 15 -28
Research Triangle Park NC

N. N.:
Bedienungsanleitung 5710 A Gas Chromatograph
Fa. Hewlett Packard

N. N.:
Chromatographie
E. Merck AG, Darmstadt

PERKOW, W., 1971 1979:
Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel
Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg
zit. n. Heimbucher, 1982

PESTICIDE ANALYTICAL MANUAL, 1975:
Volume II (Ref 1)
Food and Drug Administration
Washington DC, Section 120-128
revised 11/1/75

RAUSCHER, K., ENGST, R. u. U., FRIMUTH, 1972:
Untersuchung von Lebensmitteln
VEB Fachbuchverlag, Leipzig, 341 -342

RÖMPP, H., 1962:
Chemie Lexikon, 5. Aufl., Bd. III
Franck'sche Verlagshandlung, Stuttgart, 4115

ROTE LISTE, 1983:
Verzeichnis pharmazeutischer Spezialpräparate,
Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V.
Editio Cantor, Aulendorf/WUrtt.

RÜHM, W., 1982:
Die Bekämpfung von Kriebelmücken (Simulidae, Diptera) am Rind in Mitteleuropa
Berl., Münch., Tierärztl. Wschr. 96, 97 - 101

SCHEIDL, I., PFANNHÄUSER, W. u. K. WOIDLICH, 1980:
Gaschromatographische Bestimmung von Pyrethrin-Rückständen in Mehlproben
Dt. Lebensmittel-Rundschau 76, 309 - 311

SCHOMBURG, G., 1977:
Gaschromatographie
Verlag Chemie, Weinheim

SHELL CHEMIE GmbH, 1977 - 1983 (unveröffentlicht):
Determination of Residues of the Pyrethroid Insecticides WL 43467 (NRDC 149) (i) or of WL 43479 (NRDC 143) (ii) in Milk and Animal Tissues
Sittingbourne Analytical Method Series, Dec. 1977

Flectron, Residues
Shell Toxicology Laboratory (Tunestall), March 1978

Barricade
Technical Information, Jan. 1979

Review of Toxicology - Ripcord
Group Toxicology Division, Jan. 1979

Residues of Barricade and Supona in Cattle from Australia, Part I (Analysis of Milk), Part II (Analysis of Tissues)
Metabolism and Environmental Analysis Group, May 1979

Gutachtliche Stellungnahme zur pharmakologisch-toxikologischen Prüfung von Flectron
Kaemmerer, K., Sept. 1982

Une réussite spectaculaire des chimistes francais: la synthèse industrielle de la deltaméthrine

Informations Chimie n° 232, Déc. 1982

Pflanzenbehandlungsmittel
Shell Agrar 1983

pers. Mitteilung der Shell Chemie an Autorin 1983

TECHNICAL BULLETIN FLORISIL, 1968:
Floridin Company
3 Penn Center, Pittsburgh, Pa. 1968

TSWETT, M. S., 1906:
Ber.dtsch.bot.Ges. 24, 384
zit. n. Ali

WACHTER, H. u. A. HAUSEN, 1977:
Chemie für Mediziner, 2. Aufl.
Walter de Gruyter, Berlin, New York, 74 -78

WEGLER, R., 1970:
Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, Bd. 1
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 87 -102

WIRTH, W., 1971:
Toxikologie-Fibel, 2. Aufl.
Thieme Verlag, Stuttgart, 356

WORTHING, C. R., 1983:
A world compendium published by the British Crop Protection
Glasshouse Crops Research Inst.

GESETZLICHE BESTIMMUNGEN UND VERORDNUNGEN
(von 1969 - 1982 in chronologischer Reihenfolge)

Verordnung über die Prüfung und Zulassung von Pflanzenschutzmitteln v. 4.3.1969
BGBl. I, 183 (1969)

Gesetz zur Neuordnung und Bereinigung des Rechts im Verkehr mit Lebensmitteln und sonstigen Bedarfsgegenständen (Gesetz zur Gesamtreform des Lebensmittelrechts, Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz, LMBG) v. 15.8.1974
BGBl. I, 1945 (1974)

Verordnung zur Anpassung lebensmittelrechtlicher Verordnungen an die Straf- und Bußgeldvorschriften des Gesetzes zur Gesamtreform des Lebensmittelrechts vom 16.5.1975
BGBl. I, 1281 - 1291 (1975)

Futtermittelgesetz v. 2.5.1975
BGBl. I, 1745 - 1753 (1975)

Neufassung des Pflanzenschutzgesetzes v. 2.10.1975
BGBl. I, 2591 - 2599 (1975)

Gesetz zur Neuordnung des Arzneimittelrechts vom 24.8.1976
BGBl. I, 2445 - 2481 (1976)

Verordnung zur Neuordnung der Verordnung über Anwendungsverbote und - beschränkungen für Pflanzenschutzmittel v. 7.4.1977
BGBl. I, 564 (1977)

Verordnung über diätetische Lebensmittel (Diätverordnung) v. 20.12.1977
BGBl. I, 2793 (1977)

8. Bekanntmachung der Neufassung des Pflanzenschutzgesetzes v 2.10.1975, ber. 22.5.1979
BGBl. I, 652 (1979)

Verordnung über Stoffe mit pharmakologischer Wirkung v 19.6.1979
BGBl. I, 657 (1979)

Landesverordnung über Gifte und hochgiftige Stoffe
Bayrisches Gesetz- und Verordnungsblatt Nr. 17
München, den 7. August 1980, 359 - 442

2. Verordnung zur Änderung der Verordnung über Stoffe mit pharmakologischer Wirkung vom 21.10.1981
BGBl. I, 1136 (1981)

Verordnung über Höchstmengen an Pflanzenschutz- und sonstigen Mitteln sowie anderen Schädlingsbekämpfungsmitteln in oder auf Lebensmitteln und Tabakerzeugnissen (Pflanzenschutzmittel-Höchstmengenverordnung, PHmV) v. 24.6.1982
BGBl. I, 745 (1982)

Besonderen Dank schulde ich Herrn Prof.Dr.G.Wachendörfer für die Überlassung des Themas und Herrn Vet. Dir. Dr. H. Gemmer sowie Herrn Dr. Volk, die die Anfertigung dieser Arbeit stets mit wertvollen Anregungen unterstützt haben.

Allen anderen Angehörigen des Staatlichen Veterinäruntersuchungsamtes Frankfurt am Main, die mir bei der Durchführung der experimentellen Arbeiten behilflich waren, bin ich ebenfalls zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. M. Schah-Zeidi und Herrn Dr. H. Arent von der Deutschen Shell Chemie GmbH in Frankfurt danke ich für die finanzielle Unterstützung der Arbeit und die Überlassung der umfangreichen Spezialliteratur sowie ihrem stets freundlichen Entgegenkommen.

Herrn Prof. Dr. DDr. h. c. A. Mayr danke ich für die Bereitschaft zur Übernahme und Vertretung der vorliegenden Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 20. November 1957 wurde ich als Tochter des Rektors Hermann Grimm und seiner Ehefrau, der Oberlehrerin Anneliese Grimm, geb. Baach, in Tettnang/Bodenseekreis geboren.

Von 1963 bis 1967 besuchte ich die Grundschule in Krumbach/Bodenseekreis und von 1967 bis 1968 die Grund- und Hauptschule Weissenau, Kreis Ravensburg. 1968 wechselte ich auf das Welfen-Gymnasium Ravensburg über, wo ich 1977 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1977/78 begann ich an der Tiermedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München mein Tiermedizinstudium, welches ich im November 1982 mit dem 3. Staatsexamen erfolgreich abschloß.